

Déterminants de l'hypoglycémie néonatale et maternelle chez les femmes ayant un diabète gestationnel traité par glyburide

Determinants of neonatal and maternal hypoglycemia in women with
gestational diabetes treated with glyburide

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 570 Santé Publique, EDSP

Spécialité de doctorat : Santé publique - épidémiologie

Unité de recherche : CESP (CESP U1018 Centre de recherche en épidémiologie et santé
des populations), Université Paris-Saclay, UVSQ, Inserm, CESP, 94807, Villejuif, France.

Référent : Faculté de Médecine

Thèse présentée et soutenue à Paris-Saclay, le 29 juin 2021, par

Hanane BOUCHGHOU

Composition du Jury

Marie-Christine BOUTRON

Directrice de recherche, Inserm-Université
Paris Saclay

Présidente

François ANGOULVANT

Professeur, Université de Paris

Rapporteur & Examineur

Michel BOULVAIN

Professeur, Université de Genève

Rapporteur & Examineur

Damien SUBTIL

Professeur, Université de Lille

Examineur

Direction de la thèse

Marie-Victoire SENAT

Professeur, Université Paris Saclay

Directrice de thèse

Jean BOUYER

Directeur de recherche émérite, Inserm-
Université Paris Saclay

Co-Directeur de thèse

Remerciements

Je tiens à remercier M. François Angoulvant et M. Michel Boulvain, qui ont accepté d'être les rapporteurs de ce travail, ainsi que M. Damien Subtil, qui a accepté d'être membre du jury et d'évaluer mon travail. Je remercie Mme Marie-Christine Boutron pour me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je vous témoigne ici ma gratitude et mon profond respect.

Je souhaite exprimer ma grande reconnaissance à mes deux directeurs de thèse.

A Marie-Victoire Senat, je te remercie de m'avoir accompagnée tout au long de mon parcours, depuis mon tout début d'internat. Je te remercie pour ta confiance, tes enseignements, tes encouragements, ton soutien permanent mais aussi ton compagnonnage au quotidien. J'ai énormément appris à tes côtés sur tous les plans.

A Jean Bouyer, je te remercie de m'avoir guidée et aidée pour l'ensemble de ces travaux. Je te remercie pour ta grande disponibilité, ton aide sans limite, tes conseils toujours précieux, ta patience « presque » sans fin, ta confiance et ton soutien depuis mon Master 2. Je ne te remercierai jamais assez de m'avoir donné le goût de la recherche. C'est un honneur et privilège d'avoir été ta doctorante.

Je remercie particulièrement Delphine Mitanchez et Céline Verstuyft qui m'ont apporté une grande aide par leur précieuse expertise et les riches échanges que nous avons eus. Ces travaux n'auraient jamais pu voir le jour sans cette riche collaboration.

Enfin, un grand merci à ma famille pour leur soutien sans faille, leur confiance et leur amour.

Valorisations scientifiques

1. [Publications issues du travail doctoral](#)

- **Hypoglycemia and glycemic control with glyburide in women with gestational diabetes and genetic variants of cytochrome P450 2C9 and/or OATP1B3.**
Bouchghoul H, Bouyer J, Senat MV, Mandelbrot L, Letourneau A, Bourcigaux N, Becquemont L, Verstuyft C.
Clin Pharmacol Ther. 2020 Dec 20. doi: 10.1002/cpt.2142. Online ahead of print. PMID: 33341937
- **Transplacental transfer of glyburide in women with gestational diabetes and neonatal hypoglycemia risk.**
Bouchghoul H, Alvarez JC, Verstuyft C, Bouyer J, Senat MV.
PLoS One. 2020 May 7;15(5):e0232002. doi: 10.1371/journal.pone.0232002. PMID: 32379777

2. [Liste des travaux soumis issus du travail doctoral](#)

- **Assessment of risk of hypoglycemia by anthropometric measurements in neonates of mothers with treated gestational diabetes**
Bouchghoul H, Mitanchez-Mokhtari D, Letourneau A, Bouyer J, Senat MV
Soumis à *Archives of Disease in Childhood: Fetal & Neonatal*

3. [Liste des publications autour du travail doctoral](#)

- **Glyburide therapy for gestational diabetes: Glycaemic control, maternal hypoglycaemia, and treatment failure.**
Affres H, Senat MV, Letourneau A, Deruelle P, Coustols-Valat M, **Bouchghoul H**, Bouyer J
Diabetes Metab. 2020 Nov 26;101210. doi: 10.1016/j.diabet.2020.11.002. Online ahead of print.
PMID: 33249198

4. [Communications](#)

- Transplacental transfer of glyburide in women with gestational diabetes and neonatal hypoglycemia risk. Accepté en Poster interactif
Congrès de la société française de pharmacologie et de thérapeutique 2020
Numéro attribué pour la revue FCP : PS-160
- Impact des variants génétiques du cytochrome P450 2C9 et/ou OATP1B3 sur le risque d'hypoglycémie chez les femmes ayant un diabète gestationnel traité par glyburide.

Communication « Scoop it, Life Sciences Université Paris-Saclay », journal en ligne de l'Université Paris-Saclay

<https://www.scoop.it/topic/life-sci-news-upsaclay/p/4122487840/2020/12/31/impact-des-variants-genetiques-du-cytochrome-p450-2c9-et-ou-oatp1b3-sur-le-risque-d-hypoglycemie-chez-les-femmes-ayant-un-diabete-gestationnel-traite-par-glyburide>

- Hypoglycemia risk by anthropometric measurements in neonates of mothers with treated gestational diabetes

Soumis en communication orale

Congrès de l'EBCOG. 27th European Congress of Obstetrics and Gynaecology (EBCOG), 2-4 septembre 2021

Table des matières

REMERCIEMENTS	2
VALORISATIONS SCIENTIFIQUES.....	3
TABLE DES MATIERES	5
LISTE DES TABLEAUX	7
LISTE DES FIGURES.....	8
LISTE DES ABREVIATIONS, SYMBOLES OU UNITES	9
CHAPITRE 1 : ETAT DE L'ART	10
I. <i>Le diabète gestationnel.....</i>	<i>10</i>
II. <i>Morbidité materno-fœtale liée au diabète gestationnel.....</i>	<i>12</i>
III. <i>Définition et objectif du traitement du diabète gestationnel.....</i>	<i>22</i>
IV. <i>Efficacité du traitement du diabète gestationnel.....</i>	<i>23</i>
V. <i>Rôle potentiel du glyburide dans le traitement du diabète gestationnel.....</i>	<i>30</i>
V. <i>Insuline versus glyburide, essai randomisé INDAO.....</i>	<i>43</i>
CHAPITRE 2 : OBJECTIFS DE LA THESE	53
CHAPITRE 3 : PASSAGE TRANSPLACENTAIRE DU GLYBURIDE	54
I. <i>Introduction.....</i>	<i>54</i>
II. <i>Matériel & méthodes.....</i>	<i>55</i>
III. <i>Résultats.....</i>	<i>56</i>
IV. <i>Discussion.....</i>	<i>64</i>
V. <i>Conclusion.....</i>	<i>67</i>
CHAPITRE 4 : RISQUE D'HYPOGLYCEMIE NEONATALE EN FONCTION DES MESURES ANTHROPOMETRIQUES.....	68
I. <i>Introduction.....</i>	<i>68</i>
II. <i>Matériel & méthodes.....</i>	<i>70</i>
III. <i>Résultats.....</i>	<i>71</i>
IV. <i>Discussion.....</i>	<i>77</i>
V. <i>Conclusion.....</i>	<i>82</i>
CHAPITRE 5 : ROLE DU CYTOCHROME P450 2C9 DANS LE METABOLISME MATERNEL DU GLYBURIDE.....	83
I. <i>Introduction.....</i>	<i>83</i>
II. <i>Matériel & méthodes.....</i>	<i>85</i>
III. <i>Résultats.....</i>	<i>89</i>
IV. <i>Discussion.....</i>	<i>97</i>
V. <i>Conclusion.....</i>	<i>102</i>
CHAPITRE 6 : SYNTHESE ET DISCUSSION GENERALE.....	103

I.	<i>Synthèse de l'ensemble des résultats</i>	103
II.	<i>Forces et limites de la thèse</i>	105
III.	<i>Implications cliniques: place actuelle du glyburide dans le traitement du DG</i>	108
IV.	<i>Perspectives de recherche</i>	114
CONCLUSION		115
BIBLIOGRAPHIE		116
ANNEXES		130
	<i>Annexe n°1: Publication intitulée "Transplacental transfer of glyburide in women with gestational diabetes and neonatal hypoglycemia risk."</i>	130
	<i>Annexe n°2: Publication intitulée "Assessment of risk of hypoglycemia by anthropometric measurements in neonates of mothers with treated gestational diabetes."</i>	140
	<i>Annexe n°3: Publication intitulée "Hypoglycemia and glycemic control with glyburide in women with gestational diabetes and genetic variants of cytochrome P450 2C9 and/or OATP1B3."</i>	165

Liste des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques générales des 46 patientes traités par glyburide comparées aux 19 patientes n'ayant pas de prélèvement disponible à l'accouchement	58
Tableau 2. Caractéristiques pharmacologiques des échantillons de sang du cordon et du sang maternel, n= 46.....	59
Tableau 3. Caractéristiques maternelles et obstétricales en fonction de la survenue d'une hypoglycémie néonatale.	73
Tableau 4. Caractéristiques néonatales en fonction de la survenue d'une hypoglycémie néonatale.....	75
Tableau 5. Distribution et fréquence des polymorphismes génétiques des <i>CYP2C9</i> *2, *3 et du transporteur <i>OATP1B3</i> *4	87
Tableau 6. Caractéristiques générales des patientes et prise en charge du diabète en fonction des génotypes <i>CYP2C9</i> *2 ou *3 et <i>OATP1B3</i> *4.....	91
Tableau 7. Risque d'hypoglycémie (glycémie < 60 mg/dl) à chaque visite de suivi selon les génotypes <i>CYP2C9</i> *2 ou *3 et <i>OATP1B3</i> *4.....	93
Tableau 8. Contrôle du diabète en termes de glycémie à jeun et postprandiale à chaque visite de suivi selon les génotypes <i>CYP2C9</i> *2 ou *3 et <i>OATP1B3</i> *4.....	96

Liste des figures

Figure 1. L'hypothèse de Pedersen modifiée expliquant la physiopathologie de la macrosomie.	16
Figure 2. Mode d'action du glyburide (glibenclamide)	32
Figure 3. Diagramme de flux, étude ancillaire de INDAO sur le passage placentaire du glyburide.....	57
Figure 4. Concentration de glyburide dans le sang du cordon en fonction de la dernière dose de glyburide avant l'accouchement.....	60
Figure 5. Concentration de glyburide dans le sang maternel en fonction de la dernière dose de glyburide avant l'accouchement.	60
Figure 6 Concentration de glyburide dans le sang du cordon ombilical en fonction de la concentration dans le sang maternel à l'accouchement.	61
Figure 7. Concentrations de glyburide dans le sang du cordon (a) et dans le sang maternel (b) à l'accouchement en fonction du temps écoulé depuis la dernière prise de glyburide par voie orale.	62
Figure 8. Risque d'hypoglycémie en fonction de la concentration de glyburide dans le sang du cordon.....	63
Figure 9. Relation entre le taux d'hypoglycémie et le Z-score du poids de naissance.	76
Figure 10. Relation entre le taux d'hypoglycémie et le Z-score du rapport poids-taille. ..	77
Figure 11. Variation moyenne des doses journalières de glyburide au cours de la grossesse selon les génotypes <i>CYP2C9</i> *2 ou *3 et <i>OATP1B3</i> *4 pour chaque visite de suivi.	94

Liste des abréviations, symboles ou unités

CYP2C9 : Cytochrome P450 2C9

DG : Diabète gestationnel

DT1, DT2 : Diabète de type 1, 2

DS : déviation standard

ET : écart-type

HGPO : hyperglycémie provoquée par voie orale

IC 95% : Intervalle de confiance à 95%

IMC : indice de masse corporelle

LGA: Large for gestational age

OR : Odds ratio

PAG : petit pour l'âge gestationnel

RPT : rapport poids-taille

RR : risque relatif

SA : semaines d'aménorrhée

Chapitre 1 : ETAT DE L'ART

I. Le diabète gestationnel

1. Définition

Le diabète gestationnel (DG) est défini selon l'organisation mondiale de la santé comme une intolérance aux glucides entraînant une hyperglycémie de gravité variable qui débute ou est diagnostiquée pour la première fois pendant la grossesse (1). Il se développe principalement dans la seconde moitié de la grossesse en raison de l'insulinorésistance qui serait favorisée par un excès d'hormones placentaires. Les modifications de la résistance à l'insuline se produisent pour faciliter le transport du glucose à travers le placenta afin d'assurer une croissance et un développement fœtaux normaux. Le transfert du glucose à travers le placenta stimule la sécrétion d'insuline par le pancréas du fœtus, et l'insuline agit comme une hormone de croissance essentielle.

Cette résistance physiologique à l'action de l'insuline augmente progressivement jusqu'au terme de la grossesse. La tolérance normale au glucose est généralement rétablie après l'accouchement.

Lorsque la résistance à l'action de l'insuline maternelle devient trop importante, une hyperglycémie maternelle apparaît et un DG peut être diagnostiqué. Le DG diagnostiqué pendant la grossesse inclut les femmes dont le diabète préexistant n'a pas été diagnostiqué, ainsi que les femmes dont l'hyperglycémie est apparue pour la première fois pendant la grossesse.

2. Prévalence

Les données de prévalence sont très variables dans la littérature en raison de l'absence de consensus quant aux critères de dépistage et de diagnostic. La prévalence du DG est le plus souvent comprise entre 2 et 6 %, parfois beaucoup plus élevée, pouvant aller jusqu'à 22 % dans certaines populations (2). En effet, le DG est plus fréquent chez les femmes de certaines ethnies (hispaniques, afro-américaines, amérindiennes, asiatiques et insulaires du Pacifique) que chez les femmes caucasiennes (3). Dans une étude nord-américaine, la prévalence du DG chez les Caucasiennes est de 3,82 %, elle est très proche chez les patientes originaires d'Afrique noire et les Hispaniques (respectivement 3,54 et 3,63 %) et plus élevée chez les Amérindiennes (5,13 %) et les patientes d'origine asiatique (6,28 %) (4). Les prévalences en Europe du Nord sont plutôt basses, de 0,6 % aux Pays-Bas à 2,8% et 3,6 % au Danemark selon les critères diagnostiques retenus (5).

En 2016, l'Enquête nationale périnatale avait estimé, au niveau national, la prévalence du DG à 10,8% à partir des données des dossiers médicaux des maternités en comparaison à 7,2 % en 2010 (6). Cette augmentation peut être en partie expliquée par l'augmentation de l'âge et de l'indice de masse corporel maternel, mais peut-être également en raison des recommandations du CNGOF de 2010 relatives au dépistage du DG (7). Ces dernières, inspirées des critères adoptés de l'IADPSG (International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups), recommandent l'abandon du dépistage en deux temps (Hyperglycémie Provoquée Par voie Orale (HGPO) d'abord à 50 g puis à 100 g) et son remplacement par un dépistage ciblé en un temps en présence de facteurs de risque maternels (HGPO à 75 g). En 2014, une étude prospective monocentrique française menée à Lille a estimé la prévalence du DG à 14 % avec les critères adoptés de l'IADPSG (8).

L'approche en une étape du diagnostic du DG recommandée par l'IADPSG (9) entraîne donc une prévalence plus élevée du DG que les autres stratégies, en particulier les approches en deux étapes basées sur les critères originaux de O'Sullivan-Mahan (10). Le fait que les critères de l'IADPSG pour le DG requièrent une ou plusieurs valeurs de l'HGPO égales ou supérieures aux concentrations seuils définies, plutôt que deux ou plus, est une raison des taux de prévalence plus élevés.

La prévalence du DG a augmenté au cours des trois dernières décennies, également en raison de l'augmentation de l'obésité maternelle, des modes de vie sédentaires et de l'âge maternel avancé (3,11–14). La prévalence du DG augmente donc avec les mêmes facteurs de risque que le diabète de type 2 (DT2) (3).

Le DG peut conduire à une morbidité maternelle et néonatale secondaire à un mauvais contrôle glycémique et à une croissance fœtale excessive.

II. Morbidité materno-fœtale liée au diabète gestationnel

1. Morbidité maternelle

a. Risque de diabète de type 2

On dispose actuellement de suffisamment d'études dans la littérature ayant montré que le DG expose à un risque accru de développer un DT2. Une méta-analyse publiée en 2009 a inclus près de vingt études rétrospectives ou prospectives avec groupe témoin (15). Les patientes ayant un DT1 ou DT2 préexistant avaient été exclues (15). Parmi les 675 455 femmes suivies ayant présenté un DG, 10 859 (1,6%) ont présenté un DT2 au cours de leur vie (15). Les femmes ayant eu un DG avaient donc un risque accru de développer un DT2 par rapport à celles qui

avaient une grossesse sans DG (RR=7,43 ; IC 95 % : 4,79-11,51). La plus grosse étude de cette méta-analyse, publiée par Feig *et al*, était une étude de registre. Cette étude avait inclus 659 164 femmes sans diabète préexistant qui avaient accouché en Ontario entre 1995 et 2002 (16). Cette base de données a été combinée à un autre registre de données qui enregistre les personnes ayant un DT2. Parmi les 659 164 femmes incluses, 21 823 femmes (3,3 %) ont eu un diagnostic de DG et 9502 ont développé un DT2. Le risque de développer un DT2 était plus élevé chez les femmes ayant présenté un DG pendant leur grossesse que chez les femmes qui n'avaient pas eu de DG (RR=12,6 ; IC 95% : 12,15-13,19) (16). Neuf mois après l'accouchement, la probabilité de développer un DT2 après un DG était de 3,7 % et de 18,9 % 9 ans après l'accouchement (16). De plus, dans les autres études incluses dans la méta-analyse, les risques relatifs allaient tous dans le sens d'une augmentation du risque de DT2 après un DG.

b. Risque de syndrome métabolique

Le syndrome métabolique englobe un ensemble de signes du spectre lipidique, glucidique ou vasculaire : obésité, hypertriglycéridémie, faible taux de cholestérol HDL, hypertension artérielle et trouble de la régulation glycémique.

Une première définition a été proposée par l'organisation mondiale de la santé en 1998, avec l'insulinorésistance comme critère indispensable au diagnostic (17). L'insulinorésistance était définie par une glycémie à jeun élevée, ou une intolérance au glucose, constatée deux heures après une charge en glucose, ou un diabète de type 2. L'insulinorésistance devait être associée à deux autres des critères suivants : une obésité, une pression artérielle $\geq 140/90$ mm Hg, un taux de triglycérides $\geq 1,5$ g/l et/ou un taux de HDL-cholestérol inférieur à 0,39 g/l chez la femme, une microalbuminurie.

Le groupe d'experts du programme national « Cholestérol » (National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III [NCEP-ATPIII]) a proposé la définition suivante du syndrome métabolique (18). Un sujet présente un syndrome métabolique s'il rassemble 3 des 5 critères suivants : une obésité abdominale avec un périmètre abdominal supérieur ou égal à 88 cm pour la femme, un taux de triglycérides supérieur ou égal à 1,50 g/l (1,69 mmol/l), un taux de HDL-cholestérol inférieur à 0,50 g/l (1,29 mmol/l) pour la femme, une glycémie à jeun supérieure à 1,0 g/l (6,1 mmol/l) et une pression artérielle \geq 130/85 mmHg (18).

Bien que l'étiologie et les critères diagnostiques du syndrome métabolique fassent encore l'objet de débats, cette maladie présente des caractéristiques communes avec le DG, notamment une résistance à l'insuline, une dyslipidémie et un dysfonctionnement endothélial. Plusieurs études ont rapporté une prévalence accrue du syndrome métabolique chez les femmes ayant eu un DG. Une méta-analyse de 17 études portant sur 5 832 femmes a montré que les femmes ayant des antécédents de DG présentaient un risque nettement plus élevé de syndrome métabolique en comparaison aux femmes n'ayant pas d'antécédent de DG (RR=3,96 ; IC 95 % : 2,99-5,26) (19).

Il existe des données suggérant une relation entre l'hyperglycémie pendant la grossesse et le risque à long terme de maladie cardiovasculaire chez la femme (20). En effet, les femmes ayant un DG présentent un risque plus élevé d'événements cardiovasculaires majeurs, se manifestant pour la première fois au cours de la première décennie suivant la grossesse de référence (20). Bien que l'incidence absolue de ces événements reste faible chez les femmes jeunes en âge de procréer, l'identification de ce risque peut permettre d'instaurer des mesures de prévention et, idéalement, de prévenir la maladie.

2. Morbidité néonatale

Le DG est associé à une morbidité néonatale et obstétricale immédiate, telle que la macrosomie, la dystocie des épaules, le traumatisme néonatal (fracture de clavicule/humérus, paralysie du plexus brachial), mais également une morbidité à plus long terme avec notamment une dysrégulation métabolique dans l'enfance.

a. Macrosomie fœtale

Dans la littérature, on distingue les termes de macrosomie et « large for gestational age » (LGA). La macrosomie est définie par une valeur du poids de naissance supérieure à un seuil qui varie selon les auteurs entre 4 000 et 4 500 g (21). Cette définition ne prend pas en considération l'excès de croissance fœtale en fonction de l'âge gestationnel. Le terme LGA correspond à un poids de naissance supérieur ou égal au 90^{ème} percentile ou supérieur au 97^{ème} percentile, soit 2 déviations standard (DS) en fonction de l'âge gestationnel et du sexe néonatal, selon les auteurs.

Selon l'hypothèse de Pedersen, la macrosomie observée dans le cadre d'un diabète maternel est une conséquence de l'hyperinsulinisme fœtal secondaire à l'hyperglycémie maternelle (Figure 1) (22). En effet, l'hypothèse de Pedersen (22), développée par Freinkel (23) par la suite, suggère que la croissance fœtale est la conséquence d'une circulation excessive de glucose maternel et d'autres nutriments qui traversent le placenta pour fournir des substrats énergétiques au fœtus. Le fœtus répond à cet excès de substrats énergétiques en produisant des quantités plus élevées d'insuline, ce qui entraîne une hyperinsulinémie fœtale, à l'origine d'un certain nombre de conséquences, notamment une croissance fœtale excessive et un poids de naissance élevé pour l'âge gestationnel. L'insuline a donc un effet trophique sur le

foetus, via la stimulation de la production d'IGF-1 (Insulin-Like Growth Factor) qui va agir sur les tissus insulino-sensibles (dont le tissu adipeux).

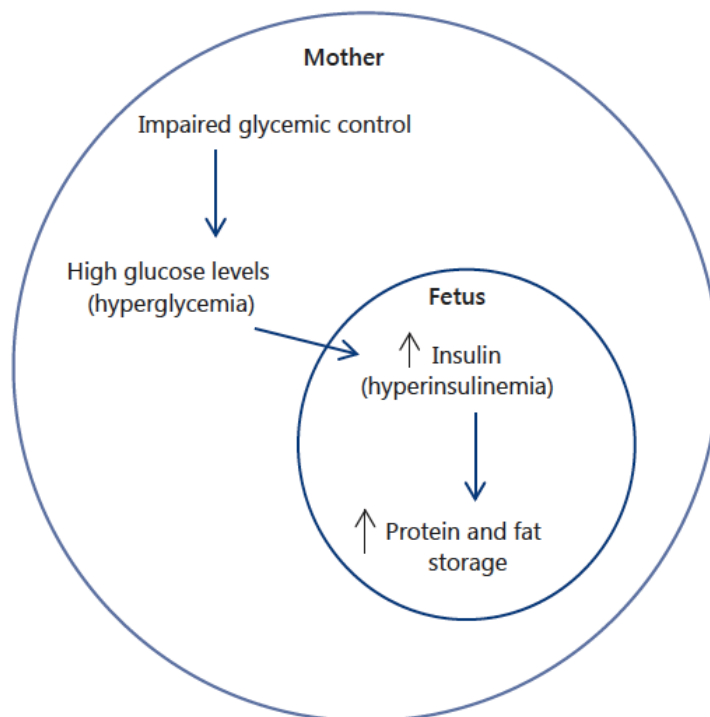


Figure 1. L'hypothèse de Pedersen modifiée expliquant la physiopathologie de la macrosomie.

Lorsque le contrôle glycémique maternel est altéré et que le taux de glucose sérique maternel est élevé, le glucose traverse le placenta - mais pas l'insuline. Au cours du deuxième trimestre, le pancréas du fœtus répond à l'hyperglycémie et sécrète de l'insuline de manière autonome (hyperinsulinémie). La combinaison de l'hyperinsulinémie et de l'hyperglycémie entraîne une augmentation des réserves de protéines et de graisses chez le fœtus, ce qui provoque une macrosomie.

L'étude HAPO (Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome), étude de cohorte prospective multicentrique, a abordé la question de l'association entre les issues périnatales défavorables et l'hyperglycémie maternelle indépendamment des facteurs de risques (obésité, âge maternel plus élevé) (24). Dans le cadre cette étude, plus de 25 500 femmes enceintes dans 15 centres répartis dans 9 pays ont réalisé une épreuve d'HGPO (hyperglycémie provoquée par voie orale) avec ingestion de 75 g de glucose et dosage de la glycémie à jeun puis à 1 et 2 heures entre 24 et 32 SA. Les seuils prédéfinis étaient 5,8 mmol/L

pour la glycémie à jeun et 11,1 mmol/L pour la glycémie à 2 heures après l'HGPO. Les patientes qui présentaient une ou plusieurs valeurs de l'HGPO supérieures à ces seuils et ainsi considérée comme ayant un diagnostic de DG selon cette définition ont été exclues. Cependant, les seuils retenus par l'ensemble des recommandations internationales varient ; ainsi, selon d'autres définitions, il s'agissait potentiellement de femmes ayant un DG ou une intolérance au glucose. Les associations entre les concentrations de glucose à jeun, à 1 heure et à 2 heures de l'HGPO, et les critères néonataux suivants : poids à la naissance supérieur au 95^{ème} percentile, dosage du peptide-C dans le sang du cordon supérieur au 95^{ème} percentile et taux d'hypoglycémie néonatale, ont été étudiées sur 23 316 grossesses.

Les données de cette étude portaient donc sur 19 885 nouveau-nés de mères non diabétiques avec différents seuils d'hyperglycémie afin d'analyser le lien entre la glycémie maternelle, la composition corporelle du nouveau-né et l'hyperinsulinisme fœtal (24). Les résultats montrent qu'il existe une relation linéaire et continue entre la proportion de masse grasse du nouveau-né (évaluée sur les mesures anthropométriques et la mesure des plis cutanés), le niveau de la glycémie maternelle (glycémies à jeun, à une et deux heures après une épreuve d'HGPO à 75 g) et le taux d'insuline fœtale estimé par le dosage du peptide C au cordon (24). Dans l'étude transversale cas-témoins mené par Ostlund *et al*, 213 femmes avec une intolérance au glucose non traitée ont été incluses prospectivement entre 1997 et 2001 (25). L'objectif de cette étude était d'évaluer si l'intolérance au glucose pendant la grossesse lorsqu'elle n'était pas traitée était associée à une morbidité maternelle ou néonatale accrue. L'intolérance au glucose était définie par une glycémie à jeun < 120 mg/dl (6,7 mmol/L) et une glycémie 2 h après 75 g de glucose entre 160 et 200 mg/dl (9 et 11,0 mmol/L). Pour chaque femme incluse avec intolérance au glucose, quatre femmes témoins ont été appariées dans le même centre, soit 812 femmes témoins. Par rapport au groupe contrôle, les femmes ayant

une intolérance au glucose ont présenté une augmentation significative du taux de macrosomie : 33 % versus 16,4 % pour un poids $\geq 4\ 000$ g et 4,3 % versus 0,2 % pour un poids $\geq 5\ 000$ g ($p < 0,001$). Le taux de nouveau-nés avec un poids de naissance supérieur à 2 DS pour l'âge gestationnel et le sexe était également augmenté parmi les femmes ayant une intolérance au glucose : 24,9 % versus 4,2 %, ($p < 0,001$) (25). L'excès de croissance fœtale était donc associé à l'intolérance au glucose pendant la grossesse (OR=7,3 ; IC 95% : 4,1-12,7), après ajustement sur l'IMC, la parité, l'hypertension, la pré-éclampsie et l'ethnie (25). Il faut noter que l'obésité maternelle (définie par un IMC ≥ 30 kg/m²) était aussi associée à la macrosomie après ajustement (OR=5,0 ; IC 95% : 2,5-10,0) (25).

b. Traumatismes néonataux

Les fœtus macrosomes issus de mères diabétiques présentent un profil particulier d'excès de croissance, impliquant un dépôt central de graisse sous-cutanée dans les zones abdominale et inter-scapulaire. Ils présentent une circonférence plus importante au niveau des épaules ainsi que des extrémités, un rapport tête/épaule plus faible, une masse graisseuse nettement plus élevée et des plis cutanés plus épais au niveau des membres supérieurs. La croissance du squelette n'est, quant à elle, pas affectée.

La macrosomie accroît donc le risque d'accouchement traumatique et plus particulièrement de dystocie des épaules, de fracture de la clavicule/ humérus et de lésion du plexus brachial, et augmente le taux d'admissions en unité de soins intensifs néonataux (26). Les nouveau-nés dont le poids de naissance est égal ou supérieur à 4 500 g présentent un risque 6 fois plus élevé de dystocie des épaules (26). La dystocie des épaules n'est pas en elle-même un événement grave sauf si elle s'accompagne d'un traumatisme néonatal.

Dans l'étude de Zhang *et al*, le risque de traumatisme néonatal était augmenté pour les deux catégories de poids : 4 500-4 999 g et > 5 000 g, avec respectivement un OR égal à 2,4 (IC 95% : 2,2-2,5) et un OR égal à 3,5 (IC 95% : 3,0-4,2) (27).

La paralysie du plexus brachial chez le nouveau-né de mère diabétique est un événement rare dont la fréquence rapportée est entre 0,2 et 3 % (28). Dans l'étude d'Ostlund *et al*, la fréquence de la paralysie du plexus brachial était de 1,9 % chez les nouveau-nés de mères avec intolérance au glucose versus 0,1 % dans le groupe contrôle ($p = 0,007$). Mais cet événement était très rare (respectivement 4/421 patients versus 1/810 patient), ce qui ne permettait pas une estimation précise du risque (25).

De plus, l'accouchement par voie vaginale peut être plus compliqué pour les mêmes raisons. Il existe une augmentation du risque de travail prolongé avec une absence de progression du fœtus dans la filière génitale, du risque d'accouchement instrumental (à l'aide d'un forceps ou d'une ventouse), et de césarienne en urgence (2). Dans l'étude de Ostlund *et al*, les femmes avec une intolérance au glucose présentaient une augmentation significative du taux de césarienne par rapport au groupe contrôle: 26,4% versus 14,7% ($p < 0,001$) (25).

c. Complications métaboliques : hypoglycémie néonatale

La cause de l'hypoglycémie néonatale peut être la persistance après la naissance de l'hyperinsulinisme apparu chez le fœtus, en particulier lorsque le DG est mal équilibré. L'hyperinsulinisme persistant après la naissance expose, en l'absence d'apport de glucose, à une hypoglycémie plus ou moins sévère et prolongée. L'insuline inhibe l'activation des voies métaboliques productrices de glucose (glycogénolyse, néoglucogenèse et lipolyse), qui se

produit normalement chez le nouveau-né sain, et augmente la consommation tissulaire de glucose (21).

L'autre cause d'hypoglycémie néonatale est l'existence d'une hyperglycémie maternelle pendant le travail qui stimule la sécrétion d'insuline fœtale persistant en excès 1 à 2 heures après la naissance. Il est difficile de connaître l'incidence précise de l'hypoglycémie en cas de DG en raison de la variabilité de sa définition selon les études.

Il semble que le risque d'hypoglycémie est d'autant plus important que le nouveau-né est macrosome. Dans l'étude d'Esakoff *et al.*, le risque d'hypoglycémie était augmenté pour les nouveau-nés de mères avec DG dont le poids était $\geq 4\ 000$ g, en comparaison des nouveau-nés de mères avec DG mais pesant moins de 4 000 g (OR=2,6 ; IC 95% : 1,05-6,45) (29). Cependant, l'incidence de l'hypoglycémie était relativement faible dans les deux groupes (respectivement 2,6 % et 5,3 %, $p = 0,04$) (29).

d. Complications métaboliques : hyperbilirubinémie, hypocalcémie

Une hypoxie fœtale relative se produit *in utero*, ce qui peut être à l'origine du risque de mortinatalité et d'asphyxie à la naissance (30). Cette hypoxie induit une production accrue d'érythropoïétine, suivie d'une polyglobulie et d'une hyperbilirubinémie chez le nouveau-né (31). Cette augmentation de l'érythropoïétine peut être causée par une hypoxie tissulaire ou une hyperinsulinémie. L'augmentation de l'hémoglobine fœtale peut être la conséquence d'une érythropoïèse accrue, médiée soit par l'érythropoïétine, soit par l'hyperinsulinémie.

L'hyperinsulinémie fœtale modifie la synthèse du surfactant pulmonaire, ce qui prédispose au risque de détresse respiratoire, pouvant entraîner une morbidité importante et l'hospitalisation dans une unité de soins intensifs néonataux (2).

L'hyperbilirubinémie n'est pas une complication grave si elle est dépistée et prise en charge pour des valeurs qui ne sont pas toxiques, ce qui est le cas habituellement. Le danger est le risque d'ictère nucléaire qui n'est pas classiquement rapporté en cas de diabète. Peu d'études ont montré une différence dans la fréquence et la gravité de l'ictère selon la prise en charge du diabète. Il n'y a pas d'augmentation significative du risque d'hyperbilirubinémie en cas de DG (21).

L'hypocalcémie a été rapportée comme complication du diabète maternel dans des études anciennes ne distinguant pas le DG du diabète préexistant. Elle n'est pas étudiée dans les publications récentes évaluant les complications selon les modalités de traitement du DG (32).

e. A long terme

Les enfants nés de mères ayant présenté un DG pendant la grossesse présentent un risque considérablement plus élevé de DT2 et d'obésité que ceux nés de mères ayant développé un diabète après la grossesse en raison de l'exposition à une hyperglycémie *in utero* (33).

Dans une cohorte ayant inclus 970 mères qui avaient participé à l'étude HAPO (24), l'objectif était d'étudier l'effet de l'hyperglycémie maternelle sur la santé cardiovasculaire et métabolique de leurs enfants suivis 7 ans après l'accouchement (34). Les enfants nés de mères qui avaient un DG présentaient plus souvent une tolérance anormale au glucose (4,7 % versus 1,7 % ; $p = 0,04$), un IMC plus élevé avec un surpoids ou une obésité, et une pression artérielle (PA) plus élevée par rapport aux enfants nés de mères sans DG (34).

Dans une cohorte prospective, 263 mères et leurs enfants ont été inclus (35). L'objectif de l'étude était de déterminer l'association entre la glycémie chez les femmes pendant la grossesse et l'IMC de l'enfant à l'âge de 3 ans. Les femmes ne présentaient pas de diabète préexistant ou de DG (35). Le poids et la taille mesurés à 3 ans ont été utilisés pour calculer

les Z-scores et les percentiles de l'IMC en fonction de l'âge et du sexe. Les auteurs ont trouvé un risque plus élevé de BMI élevé chez les enfants de 3 ans dont les mères avaient une glycémie supérieure à 7,2 mmol/l après une épreuve d'HGPO de 50 g pendant la grossesse par rapport à ceux dont les mères avaient une glycémie inférieure à 5,6 mmol/l (différence des moyennes des Z scores estimée à 0,39 (IC 95% : 0,03-0,75) (35).

III. Définition et objectif du traitement du diabète gestationnel

L'objectif du traitement du diabète serait la mise en œuvre d'interventions cliniques efficaces afin de maintenir un contrôle de la glycémie maternelle, dans le double but de maintenir la croissance du fœtus dans des paramètres normaux et de protéger ainsi la mère et le bébé de potentiels effets indésirables. L'objectif du traitement est donc indirect puisque le contrôle de l'équilibre glycémique maternel permettrait de prévenir le risque de complications néonatales. En effet, il est admis que les complications métaboliques fœtales sont directement liées à l'hyperinsulinisme fœtal, qui est lui-même est la conséquence du degré de contrôle glycémique maternel (24).

Les nombreuses études ayant évalué le rôle du traitement du DG portaient sur des critères de jugement néonataux, et montraient que le traitement permettrait de diminuer le risque de complication néonatale (36). A l'inverse, le rôle du traitement du DG dans le contrôle glycémique ou sur la survenue de complications maternelles n'a pas été évalué. Cela est soutenu par le fait que le traitement agit en diminuant le niveau de glycémie maternelle. Ainsi, la surveillance des glycémies maternelles et le traitement hypoglycémiant afin de maintenir le niveau des glycémies dans des cibles définies est une façon indirecte de contrôler le DG afin d'en diminuer les complications néonatales.

La plupart des femmes peuvent être prises en charge grâce à des conseils nutritionnels et à une modification de leur régime alimentaire. Cependant, environ 25 à 30 % d'entre elles auront finalement besoin d'une thérapie médicamenteuse pour contrôler leur glycémie. Le traitement actuellement recommandé en cas d'échec des mesures hygiéno-diététiques est l'insulinothérapie.

Dans ces cas, l'insulinothérapie est la stratégie thérapeutique de référence utilisée, car elle ne passe pas la barrière placentaire en raison d'un poids moléculaire important. Il n'existe donc pas en théorie d'effets secondaires fœtaux ou néonataux. Le DG et le DT2 partagent des caractéristiques communes de résistance à l'insuline, ce qui fait des antidiabétiques oraux une possibilité thérapeutique pour les patientes atteintes de DG. Depuis plusieurs années, les antidiabétiques oraux ont été une option thérapeutique envisagée pour traiter le DG. Les biguanides comme la metformine et les sulfamides hypoglycémiantes comme le glyburide ont l'avantage d'être pris par voie orale, d'être moins coûteux, de ne pas nécessiter une conservation au froid et donc d'être mieux acceptés par les patientes. Cependant, ils ne dispensent pas des mesures diététiques et de la surveillance glycémique.

IV. Efficacité du traitement du diabète gestationnel

Les essais publiés évaluant l'effet d'une prise en charge interventionnelle du DG sur les issues périnatales immédiates sont en faveur d'un effet bénéfique du traitement du DG sur ces

issues. Ces essais, ont comparé un groupe «intervention» où sont mises en place des mesures hygiéno-diététiques, une auto-surveillance glycémique et si besoin une insulinothérapie à un groupe «contrôle» ne recevant qu'une prise en charge de routine. La prise en charge de routine est définie par l'absence des mesures sus-décrites (mesures hygiéno-diététiques, auto-surveillance glycémique et si besoin insulinothérapie). Les résultats sont en faveur d'un traitement intensif du DG, même dans les formes modérées, tout au moins en ce qui concerne les complications materno-fœtales à court terme (37,38).

1. Rôle du traitement sur la macrosomie

Les cinq essais inclus dans la méta-analyse de Horvath *et al*, qui comparaient un groupe interventionnel avec traitement du DG et un groupe contrôle avec une prise en charge de routine, retrouvaient une diminution significative de la macrosomie et de l'excès de croissance fœtale après traitement spécifique du DG (32). La méta-analyse pour les deux paramètres retrouvait un OR respectivement à 0,38 (IC 95% : 0,30-0,49) et 0,48 (IC 95% : 0,38-0,62) (32).

2. Rôle du traitement sur la morbidité néonatale

a. Hypoglycémie néonatale

Langer *et al* a comparé les enfants exposés de 555 femmes avec DG non traité diagnostiqué après 37 SA et les enfants exposés de 1 110 femmes avec DG traité à des enfants témoins nés de 1 110 femmes non diabétiques (38). Dans cette étude, la fréquence des hypoglycémies néonatales était de 18 %, 6 % et 2 % respectivement pour les enfants de mères avec DG non traité, DG traité, et témoins, avec un OR égal à 10,38 (IC 95% : 6,51-16,56) en cas de DG non

traité en comparaison avec les témoins non diabétiques (38). Dans l'étude d'Ostlund *et al*, la fréquence de l'hypoglycémie néonatale, définie par une glycémie < 40 mg/dl (2,2 mmol/L), était augmentée dans le groupe intolérance au glucose non traitée en comparaison avec un groupe contrôle : 7,1 % versus 2,5 % ($p = 0,001$) (25), sans précision sur les modalités de dépistage de l'hypoglycémie.

b. Dystocie des épaules

Différentes études sur le DG montrent une diminution significative du risque de dystocie lorsque le diabète est traité ou lorsque le traitement est intensifié (32). Dans l'étude de Langer *et al*, la fréquence de la dystocie des épaules dans les trois groupes (DG non traité, DG traité, et contrôle) était respectivement de 1,6 %, 1,2 %, et 0,4 % chez les femmes de corpulence normale ; et 3,2 %, 0,7 % et 0,8 % chez les femmes en surpoids ou obèses (38). Les différences n'étaient pas significatives, mais le manque de puissance ne permettait pas de conclure (38).

c. Traumatisme néonatal

La méta-analyse incluant les deux essais randomisés de Crowther et Landon (37,38) comparant le traitement du DG versus la prise en charge de routine a montré une diminution non significative des traumatismes néonataux en cas de traitement (OR=0,39 ; IC 95% : 0,13-1,15 ; $p=0,088$) (32).

d. Asphyxie et décès périnataux

L'analyse de la littérature, incluant les études comparant un traitement du diabète par régime ou insuline versus une prise en charge de routine, ou les études comparant l'efficacité de

traitements spécifiques, ne montre pas de différence formelle entre les groupes concernant la mortalité néonatale ou périnatale (32).

L'étude de Crowther *et al* (ACHOIS), qui a comparé un groupe de 490 femmes avec DG modéré non traité et un groupe de 510 femmes avec DG traité, est la seule qui a rapporté une différence concernant la mortalité périnatale : cinq décès sont survenus dans le groupe sans intervention, aucun dans le groupe traité (37). Cette différence n'était cependant pas significative ($p=0,07$). Dans cette même étude, aucune différence n'était mise en évidence pour la fréquence d'un score d'Apgar < 7 à 5 min entre les deux groupes avec 6 enfants (1 %) dans le groupe traité versus 11 (2 %) dans le groupe non traité ($p=0,26$) (37).

Dans l'étude de Langer *et al*, la fréquence des mort-nés était respectivement de 5,4 pour 1 000, 3,6 pour 1 000 et 1,8 pour 1 000 dans les trois groupes DG traité ou non, DG traité et contrôle (39). L'OR n'était pas significatif entre DG non traité et témoin (OR=1,91 ; IC 95% : 0,27-14,08), ni entre DG traité et témoin (OR=2,00 ; IC 95% : 0,18-22,10).

e. Critère composite de morbidité périnatale

Dans l'étude australienne ACHOIS (Australian Carbohydrate Intolerance Study in Pregnant Women) de Crowther *et al*, les femmes ayant un DG ont été randomisées en deux bras : suivi de routine ou conseils diététiques associés à l'insuline si nécessaire (37). Le critère de jugement principal était un critère composite, qui comprenait le décès périnatal, la dystocie des épaules, une fracture osseuse ou une paralysie nerveuse (37). Ce critère a été observé chez 1 % des nouveau-nés de mères du groupe intervention et 4 % des nouveau-nés de mères du groupe de prise en charge de routine ($p=0,01$).

Comme dans l'étude de Crowther *et al*, Landon *et al* ont évalué l'intérêt de la prise en charge des formes modérées de DG sur la morbidité materno-foetale. Il s'agit d'une étude multicentrique, randomisée, de 958 femmes prises en charge entre 24 et 31 semaines d'aménorrhée, ayant une glycémie à jeun inférieure à 95 mg/dl mais un résultat anormal lors de l'HGPO. Les patientes étaient randomisées soit dans le groupe traitement (n = 458), soit dans le groupe contrôle (n = 473). Landon *et al*, dans leur essai randomisé détaillé plus haut (Chapitre 1. section IV.2), ont également évalué la morbidité périnatale avec comme critère de jugement principal, un critère composite comprenant la mort fœtale *in utero*, le décès néonatal, l'hypoglycémie néonatale, l'hyperbilirubinémie, la concentration élevée de peptide C dans le sang du cordon et un traumatisme à la naissance (36). Ce critère était retrouvé chez 32 % des nouveau-nés de mères ayant reçu un traitement et chez 37 % des nouveau-nés de mères du groupe de prise en charge de routine (p=0,14). Contrairement à l'étude de Crowther *et al*, le critère composite n'était donc pas significativement différent entre les deux groupes. Une explication possible est la définition du critère composite dans l'essai de Landon *et al*, qui est large et entraîne ainsi une différence statistiquement non significative (36).

3. Rôle du traitement sur la morbidité des enfants à long terme

Peu d'études ont montré l'absence de réduction de l'obésité infantile ou du dysfonctionnement métabolique chez les enfants des femmes traitées pour un DG (40). Plus précisément, il n'existe pas de preuve suffisante que le traitement du DG réduise le risque ultérieur d'obésité ou d'intolérance au glucose chez les enfants.

L'étude de Hillier *et al* est la plus citée pour avoir montré l'avantage du traitement du DG sur le devenir des enfants (41). L'objectif de cette vaste étude observationnelle était de déterminer le lien entre la glycémie maternelle mesurée pendant la grossesse et le risque

d'obésité pendant l'enfance (41). Les auteurs retrouvaient une tendance significative à l'augmentation de l'obésité infantile à l'âge de 5 à 7 ans pour des valeurs croissantes de la glycémie maternelle, après ajustement des facteurs de confusion potentiels, notamment la prise de poids de la mère, l'âge de la mère, la parité, l'origine ethnique et le poids de naissance. La stratification en fonction du poids de naissance a également montré ces effets chez les enfants de poids normal à la naissance (41). Les auteurs suggéraient également que le traitement du DG pouvait réduire le risque d'obésité infantile car le risque d'obésité était diminué et n'était plus significatif après ajustement dans le groupe de femmes ayant un DG traité.

Le suivi des enfants dont les mères étaient incluses dans un essai contrôlé randomisé sur un traitement du DG versus l'absence de traitement n'a pas permis de mettre en évidence une différence d'IMC chez les enfants âgés de 4 à 5 ans, malgré une nette différence dans le taux de macrosomie à la naissance (42). À la naissance, la prévalence de la macrosomie (poids de naissance $\geq 4\ 000$ g) était de 5,3 % chez les 94 enfants dont les mères faisaient partie du groupe « intervention », et de 21,9 % chez les 105 enfants du groupe contrôle « prise en charge de routine » (42). À l'âge de 4 ou 5 ans, le Z-score moyen de l'IMC était de 0,49 +/-1,20 chez les enfants du groupe intervention et de 0,41 +/-1,40 chez les témoins. La différence entre les groupes de traitement n'était pas significative (différence = 0,08 ; IC 95% -0,29 à 0,44) (42).

4. Rôle du traitement sur l'équilibre glycémique

Les avantages maternels du traitement du DG ont également été démontrés. Dans l'essai randomisé de Landon *et al* (NICHD Maternal Fetal Medicine Units), les femmes traitées pour

un DG présentaient des taux plus faibles de troubles hypertensifs de la grossesse, d'accouchement par césarienne et de perte de poids (36).

En 2005, 2 études randomisées contrôlées ont démontré que l'absence de traitement, ou un traitement insuffisant du DG, était associé à une augmentation de la morbidité périnatale. En effet, l'étude ACHOIS publiée en 2005 est la principale étude interventionnelle dans le cadre du DG (37). Il s'agit d'une étude australienne, multicentrique, randomisée, dont le but était d'évaluer l'efficacité d'une prise en charge associant diététique, auto-surveillance glycémique et insulinothérapie chez des femmes ayant eu un DG en comparaison avec une prise en charge de routine. Le critère de jugement principal était un critère composite associant les décès néonataux, les événements liés à la morbidité néonatale (dystocie des épaules, fractures osseuses et paralysies nerveuses), définissant les complications périnatales graves. Cette étude a démontré le bénéfice à traiter de façon intensive les femmes avec un DG puisque les complications néonatales étaient 2 à 4 fois plus fréquentes chez les femmes non traitées: 1 % versus 4 % (RR ajusté en fonction de l'âge maternel, de l'origine ethnique et de la parité : 0,33; IC 95 % : 0,14-0,75 ; p=0,01) (37).

En effet, il est admis que les complications métaboliques fœtales sont directement liées à l'hyperinsulinisme fœtal, qui est lui-même dépendant du degré de contrôle métabolique maternel. Les résultats de cette étude apportent des éléments de réponse mais ne permettent pas de préciser le niveau d'hyperglycémie pour lequel une intervention est bénéfique ni les objectifs glycémiques à atteindre.

Enfin, Landon *et al* ont évalué l'intérêt de la prise en charge des formes modérées de DG sur la morbidité materno-foetale. Le critère de jugement principal choisi était un critère composite regroupant la prématurité, la mortalité périnatale et les complications néonatales incluant l'hyperbilirubinémie, l'hypoglycémie, l'hyperinsulinémie et les traumatismes

néonataux. Cette étude n'a pas pu montrer de différence significative entre les 2 groupes en ce qui concerne le critère composite. Ce critère était retrouvé chez 32 % des nouveau-nés de mères ayant reçu un traitement et chez 37 % des nouveau-nés de mères du groupe de prise en charge de routine ($p=0,14$). En revanche, il a été observé une diminution du poids de naissance, de la macrosomie définie par un poids de naissance de plus de 4 kg, de la graisse néonatale, de la dystocie des épaules ainsi que du taux de césarienne. La prise en charge des formes modérées était également associée à une réduction de la pré-éclampsie et de l'HTA gravidique avec une réduction du taux combiné de pré-éclampsie et d'hypertension artérielle gravidique : 8,6 % versus 13,6 % ; ($p=0,01$). Il convient de noter que la prise de poids a été moins importante dans le groupe traitement que dans le groupe contrôle : $2,8 \pm 4,5$ kg versus $5,0 \pm 3,3$ kg ; $p<0,001$).

V. Rôle potentiel du glyburide dans le traitement du diabète gestationnel

Depuis plusieurs années, des traitements alternatifs par les antidiabétiques oraux ont été envisagés, notamment les Biguanides (metformine®).

La metformine est un biguanide qui ne stimule pas l'insulino-sécrétion mais augmenterait, en présence d'insuline, l'utilisation périphérique du glucose (43). Le plus large essai randomisé ayant comparé la metformine à l'insuline est l'essai de Rowan *et al* qui a inclus 751 femmes ayant un DG (44). Dans cet essai, le critère de jugement principal qui était un critère composite de morbidité néonatale était similaire entre les groupes metformine et insuline : 32,0% dans le groupe metformine versus 32,2% dans le groupe insuline (RR= 0,99 ; IC 95% : 0,80-1,23) (44). De plus, un des inconvénients majeurs de la metformine est le contrôle glycémique. Dans les essais randomisés ayant comparé la metformine à l'insuline, le taux rapporté de patientes

n'ayant pas atteint le contrôle glycémique avec le traitement par metformine seule et nécessitant l'ajout d'insuline était très élevé. Dans l'essai de Rowan *et al*, 46,3 % des patientes dans le groupe metformine ont reçu un traitement complémentaire par insuline (44). Bien que la metformine ne soit pas associée à une augmentation des complications périnatales par rapport à l'insuline (44,45), elle a une efficacité sur l'équilibre glycémique que dans 54% des cas, faisant de son utilisation une alternative peu intéressante à l'insulinothérapie (44)

L'autre classe médicamenteuse de choix est représentée par les sulfamides hypoglycémiantes comme le glyburide ou glibenclamide (Daonil®) que nous développerons en détail dans ce chapitre.

1. Physiopathologie du glyburide

Les sulfonylurées ont été utilisées pour traiter le DT2 depuis de nombreuses décennies. Le glyburide (également connu sous le nom de glibenclamide) est un sulfonylurée de deuxième génération, qui est une classe de médicaments également connue sous le nom de sécrétagogues d'insuline car ils stimulent la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques (46). Le glyburide se lie aux protéines avec une concentration maximale à 2-3 heures et une demi-vie de 4-6 heures. Il est largement métabolisé dans le foie par l'enzyme du cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) et est décomposé en métabolites actifs (47). Cette enzyme hépatique est responsable du métabolisme de certains médicaments, tels que les agents hypoglycémiantes et les anticoagulants administrés par voie orale ainsi que les AINS (48,49). Le métabolisme hépatique des sulfonylurées hypoglycémiantes est génétiquement déterminé, en raison des polymorphismes génétiques du CYP2C9.

La pharmacocinétique du glyburide pendant la grossesse montre une réduction de 50% de la concentration sérique de glyburide chez les femmes enceintes par rapport aux sujets non

enceintes (47). Compte tenu de l'augmentation de la clairance pendant la grossesse, des doses plus élevées peuvent être nécessaires pour obtenir un effet similaire (50).

Le glyburide nécessite des cellules β -pancréatiques fonctionnelles pour leur effet hypoglycémiant. Il stimule la sécrétion d'insuline par les cellules des îlots β pancréatiques, via son action sur les canaux potassium/calcium dépendant. Ainsi, le glyburide provoque une dépolarisation de la membrane cellulaire. Pour cela, il se lie à des récepteurs spécifiques sur les cellules β , ce qui entraîne la fermeture des canaux d'ATP du potassium (Figure 2). En conséquence, les canaux du calcium s'ouvrent, ce qui entraîne une augmentation du calcium cytoplasmique qui entraîne un relargage de l'insuline par les cellules β du pancréas. Le principal effet de ces médicaments est d'augmenter la sécrétion de l'insuline. L'augmentation de la sécrétion d'insuline inhibe la production de glucose hépatique, qui est le principal mécanisme de l'hyperglycémie à jeun. D'autre part, l'administration de glyburide chez une patiente diabétique provoque une majoration de la réponse insulinothèque postprandiale et permet de diminuer donc l'hyperglycémie postprandiale

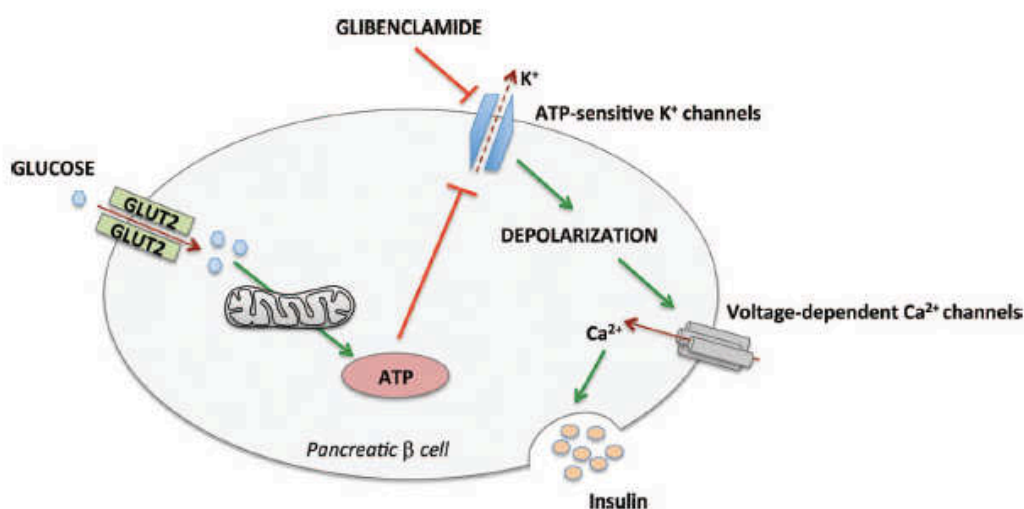


Figure 2. Mode d'action du glyburide (glibenclamide)

La sécrétion d'insuline dépend du glyburide dans les cellules pancréatiques. Physiologiquement, l'afflux de glucose dans la cellule pancréatique induit la synthèse d'ATP par la glycolyse et la respiration mitochondriale avec fermeture ultérieure du canal K⁺. Chez les patients atteints de diabète de type 2, le glyburide ferme directement les canaux K⁺ sensibles à l'ATP, réduisant ainsi le potentiel membranaire et induisant un afflux de calcium, qui à son tour stimule la sécrétion d'insuline.

Abréviations : ATP : adénosine triphosphate ; Ca²⁺ : ion calcium ; K⁺ : ion potassium.

Le principal effet secondaire du glyburide est l'hypoglycémie qui peut survenir chez 11 à 38 % des patients. Chez les patients atteints de DT2, les symptômes hypoglycémiques sont liés à la dose. L'épuisement des cellules β et la résistance à l'insuline sont des caractéristiques communes du DT2 et du DG. Par conséquent, l'utilisation d'un antidiabétique de type sulfonylurée pourrait être une alternative dans la prévention des complications du DG.

2. Place du glyburide dans le traitement du diabète gestationnel

En 2000, Langer *et al* ont publié le premier essai comparant le glyburide à l'insuline dans le traitement du DG (39). Cet essai portait sur 404 femmes, dont 201 randomisées dans le groupe glyburide et 203 dans le groupe insuline, ayant eu une grossesse monofoetale et un DG nécessitant un traitement pharmacologique. Le critère de jugement principal de l'étude qui était le contrôle glycémique maternel était similaire entre les groupes glyburide et insuline (39). Le contrôle glycémique maternel était évalué par les glycémies mesurées à domicile et les taux d'hémoglobine glyquée pendant le traitement des femmes. La concentration moyenne de la glycémie à jeun mesurée lors des visites cliniques était de 98±13 mg/dL dans le groupe glyburide et de 96±16 mg/dl dans le groupe insuline (p=0,17) (39). De même, la concentration moyenne de la glycémie postprandiale mesurée lors des visites cliniques était de 113±22 mg/dL dans le groupe glyburide et de 112±15 mg/dl dans le groupe insuline (p=0,60) (39). Enfin, l'hémoglobine glyquée était de 5.5±0.7% dans le groupe glyburide et de

5.4±0.6% dans le groupe insuline ($p=0,12$) (39). De plus, les issues périnatales étaient également comparables entre les 2 groupes, notamment les troubles métaboliques (hypoglycémie, hyperbilirubinémie, hypocalcémie), la macrosomie, et la mortalité périnatale (39). Le risque d'hypoglycémie était de 9% versus 6% dans les groupes glyburide et insuline respectivement ($p=0,25$). Le risque d'hyperbilirubinémie était de 6% versus 4% dans les groupes glyburide et insuline respectivement ($p=0,36$) (39). Le poids de naissance moyen était de 3256±543 mg/dl dans le groupe glyburide et 3194±598 mg/dl dans le groupe insuline ($p=0,28$) (39). On rappelle que les issues périnatales étaient des critères de jugement secondaire ; ainsi, le calcul du nombre de sujets nécessaires n'était pas adapté pour montrer ou non une différence sur ces critères. Enfin, le glyburide n'était pas détecté dans le sang du cordon à la naissance, en accord avec les précédentes études in vitro qui ont montré l'absence de détection d'un passage materno-fœtal de glyburide dans des placentas à terme perfusés (39). Cependant, nous disposons actuellement de données plus récentes de pharmacodynamie sur le passage placentaire. Ces études ont montré qu'il existe bien un passage placentaire en cas de prise maternelle de glyburide (47,51). Les techniques de dosages ayant évolué, les seuils de détection sont actuellement plus bas qu'en 2000 permettant de détecter des dosages sanguins de glyburide jusque-là non détectés.

Depuis cet essai princeps, le glyburide a peu à peu remplacé l'insuline en tant que pharmacothérapie pour le DG notamment aux États-Unis (39). Entre 2000 et 2011, l'utilisation du glyburide est ainsi passée de 7,4 % à 64,5%, devenant le traitement le plus courant en 2007 (52). Cela s'est produit malgré l'absence d'autorisation de mise sur le marché pour l'utilisation du glyburide pendant la grossesse et de recommandations de pratique clinique. En France, les antidiabétiques oraux ne sont pas recommandés chez la femme enceinte pour traiter le

diabète gestationnel (53). Ils ne sont pas prescrits en pratique courante chez les femmes ayant un diabète gestationnel.

Depuis, des méta-analyses (54,55) et de larges études rétrospectives (56,57) ont remis en question l'utilisation du glyburide, en raison de l'augmentation possible de la morbidité néonatale en comparaison à l'insuline, en particulier la macrosomie et l'hypoglycémie néonatale.

3. Glyburide et Morbidité néonatale

La méta-analyse de Zeng *et al* en 2014, incluant cinq essais contrôlés randomisés, a rapporté que le glyburide augmentait significativement le taux d'hypoglycémie néonatale (RR=1,98 ; IC 95 % : 1,17-3,36), et l'incidence de la macrosomie (RR=2,22 ; IC 95% : 1,07-4,61) en comparaison avec l'insuline (55). Cette méta-analyse n'a pas révélé de différence significative quant à l'admission en soins intensifs de néonatalogie, la prématurité, l'hypocalcémie néonatale, l'hyperbilirubinémie néonatale ou la polyglobulie chez les nouveau-nés de mères traitées par glyburide par rapport aux mères traitées par l'insuline. Une méta-analyse plus récente a inclus dix essais soit 1194 patientes (54). Elle retrouvait une augmentation de la morbidité néonatale, avec une augmentation du risque hypoglycémie néonatale (RR=1,89 ; IC 95% 1,26-2,82; p=0,002), sans différence sur le poids de naissance (Différence moyenne=79; IC 95% : -64-221,99 ; p=0,28), ni sur l'incidence de la macrosomie (RR=1,69; IC 95%: 0,57-5,08; p=0,35) (54).

Cependant, tous les essais randomisés inclus dans les méta-analyses comparant le glyburide à l'insuline utilisaient le contrôle glycémique maternel comme critère de jugement principal, et n'étaient donc pas conçus de manière optimale pour étudier les complications néonatales, avec des effectifs insuffisants.

Une large étude rétrospective publiée par Cheng *et al* a rapporté que les nouveau-nés de femmes traitées par glyburide (n=2073) présentaient un léger sur-risque d'avoir un poids de naissance supérieur à 4000 g et d'être admis en unité de soins intensifs par rapport aux nouveau-nés de femmes traitées par l'insuline (n=8609) : 13,4% versus 13,1% (ORa =1,29 ; IC 95% :1,03-1,64) (57). Dans cette même étude, il n'y avait pas de différence concernant le poids de naissance supérieur à 4500 g ou supérieur au 90^{ème} percentile (57). Plus récemment, dans une très large étude rétrospective incluant 4982 femmes traitées par glyburide et 4191 par insuline, Castillo *et al* ont montré une augmentation des risques néonataux (56), en particulier, les risques d'hypoglycémie néonatale (RR= 1,40; IC 95% : 1,00-1,95), de traumatisme néonatal (RR=1,35; IC 95% :1,00-1,82) et ce à la limite de la significativité. Le risque d'hypoglycémie néonatale était de 1,9% dans le groupe glyburide en comparaison à 1,3% dans le groupe insuline (56). L'incidence de la macrosomie était de 4,7% dans le groupe glyburide et de 3,2% dans le groupe insuline avec un RR= 1,43 (IC 95% 1,16-1,76) (56).

4. Contrôle glycémique maternel

a. Équilibre glycémique

Dans l'étude de Langer *et al*, le critère de jugement principal était l'obtention d'un niveau défini de contrôle glycémique. Les objectifs du traitement étaient l'obtention d'une glycémie moyenne de 90 à 105 mg par décilitre (5,0 à 5,9 mmol par litre), une glycémie à jeun de 60 à 90 mg par décilitre (3,4 à 5,0 mmol par litre), une glycémie préprandiale de 80 à 95 mg par décilitre (4,5 à 5,3 mmol par litre) et une glycémie postprandiale inférieure à 120 mg par décilitre (6,7 mmol par litre) (39). Une infirmière expliquait aux femmes comment mesurer leur glycémie à l'aide d'un glucomètre (39). On leur demandait d'effectuer des mesures des glycémies capillaires sept fois par jour : à jeun le matin, avant les repas, et deux heures après

les repas et au coucher. Les patientes débutaient les mesures des glycémies une semaine avant le début du traitement. En outre, l'hémoglobine glyquée et le peptide C sanguin étaient mesurés au début du traitement, et l'hémoglobine glyquée était répétée à la fin du troisième trimestre de la grossesse. Pour des raisons de contrôle de qualité, la glycémie était mesurée avec le glucomètre et simultanément au laboratoire lors de chaque visite médicale hebdomadaire. Chez les femmes randomisées dans le groupe glyburide, la dose initiale était de 2,5 mg par voie orale le matin. Lorsque cela était indiqué, la dose de glyburide était augmentée la semaine suivante de 2,5 mg, puis de 5 mg par semaine jusqu'à un maximum de 20 mg, et ce pour obtenir un contrôle glycémique optimal. Si les valeurs de glycémie d'une femme traitée avec la dose maximale de glyburide n'atteignaient pas les objectifs fixés pendant une période de deux semaines, son traitement était remplacé par une insulinothérapie. Sur les 201 femmes randomisées pour recevoir du glyburide, 36 (18%) n'ont pas atteint des valeurs optimales de glycémie, et 8 femmes (4 %) ont eu un changement de traitement (switchées) pour l'insuline (39). Dans cette étude, le contrôle glycémique était équivalent dans les groupes insuline et glyburide (39). Dans le groupe glyburide, 139 femmes (69 %) avaient des glycémies à jeun supérieures à 95 mg par décilitre au moment du diagnostic versus 146 femmes dans le groupe insuline (72 %). Les glycémies quotidiennes moyennes (à jeun, préprandial, postprandial et au coucher) étaient similaires dans les deux groupes avant et pendant le traitement. Les valeurs d'hémoglobine glyquée étaient également similaires dans les deux groupes pendant le traitement : 5,5% versus 5,4% ($p=0,12$) dans les groupe glyburide et insuline respectivement (39). Pour 165 femmes du groupe glyburide (82 %) et 179 femmes du groupe insuline (88 %), les valeurs de glycémie mesurées à domicile se situaient dans les objectifs fixés.

La méta-analyse de Zeng *et al* a montré que le diabète pouvait être contrôlé par le glyburide aussi efficacement qu'avec l'insuline chez les patientes atteintes de DG (55). Les auteurs ne retrouvaient pas de différence significative sur la glycémie maternelle moyenne à jeun et postprandiale ainsi que l'hémoglobine glyquée (55).

L'échec du traitement par glyburide est défini dans la plupart des études par un équilibre glycémique non atteint malgré l'atteinte des doses maximales du glyburide et donc par le switch du glyburide par l'insuline. Actuellement, la dose maximale acceptée pendant la grossesse est la dose de 20 mg, sur la base du schéma posologique recommandé chez les patientes non enceintes atteintes de diabète de type 2. L'échec du traitement par glyburide survient dans 16 à 21% des cas selon les études (58,59). Dans la méta-analyse de Song, le traitement par glyburide a permis un bon contrôle de l'équilibre glycémique chez 93 % des patientes (54).

Langer *et al* ont suggéré que l'échec du traitement au glyburide était lié à la gravité du DG (60). Cette hypothèse est étayée par une étude prospective portant sur 69 patientes avec un DG traité par glyburide, dont l'objectif était d'étudier le taux d'échec du traitement par glyburide dans l'équilibre glycémique maternel et d'établir des critères spécifiques permettant de prédire le succès du traitement au glyburide (58). Le taux d'échec du traitement par glyburide était de 18,8 %. Les facteurs de succès du traitement par glyburide étaient un âge gestationnel à l'initiation du traitement (échec du régime) après 30 SA, et une glycémie à jeun ou postprandiale inférieures à 110 mg/dl et 140 mg/dl sous régime respectivement (58). Toutefois, l'échec de traitement par glyburide ne semble pas être associé à une augmentation de la morbidité (61).

b. Glyburide et hypoglycémie maternelle

En 2005, l'American Diabetic Association a défini l'hypoglycémie comme une glycémie inférieure à 70 mg/dl (3.9 mmol/l) associée à des symptômes neurologiques (hypoglycémie sévère ou symptomatique) ou non accompagnée de symptômes (hypoglycémie asymptomatique) (62). En revanche, les épisodes hypoglycémiques pendant la grossesse, en particulier dans le cas du DG, n'ont pas été définis biologiquement ou cliniquement. Cependant, l'hypoglycémie est l'effet secondaire le plus fréquent du traitement par glyburide. L'étude de Langer *et al* a rapporté que le taux d'hypoglycémie maternelle chez les patientes ayant un DG traitées par glyburide était de 2 % comparé à 20 % avec l'insuline ($p= 0,03$) (39). Cependant, l'hypoglycémie maternelle n'était pas définie dans la méthodologie de l'essai, mais dans la présentation des résultats par une glycémie inférieure à 40 mg par décilitre (2,2 mmol par litre). Aucune femme n'a présenté plus de 6% de leurs valeurs de glycémies inférieures à 40 mg/dl. Aucune des femmes n'a fait état de symptômes graves, tels que confusion, mauvaise coordination, vision double, maux de tête, ou incapacité à traiter elle-même ses symptômes. Dans le groupe insuline, la dose initiale instaurée était de 0,7 unité par kilogramme du poids de la femme, avec une dose moyenne rapportée de 85 unités par jour (+/-48), ce qui représente une dose relativement importante. Cela pourrait expliquer le taux important d'hypoglycémie maternelle dans ce groupe, qui ne sont pas en accord avec les données de la littérature.

D'autres études ont constaté une plus faible incidence de l'hypoglycémie maternelle avec un traitement par glyburide en comparaison à l'insuline (63,64). Dans leur étude, Yogevev *et al* effectuaient une surveillance continue de la glycémie chez des patients atteints de DG (64). Dans cette étude, 28 % des 25 patients traités par glyburide ont eu au moins un épisode d'hypoglycémie, versus 68 % des 30 patients traités par insuline (64).

Une étude publiée par Brustman *et al* évaluait la relation entre les doses de glyburide et le nombre d'épisodes d'hypoglycémie chez 674 femmes avec DG traitées par glyburide entre 2000 et 2009 (65). 80 % des patientes ont reçu 10mg de glyburide ou moins par jour et 12 patientes ont reçu 20mg. Cette étude a mis en évidence que l'augmentation des doses n'était pas associée à l'augmentation des incidences d'hypoglycémies. De plus, 33 % des femmes traitées par glyburide avaient eu au moins un épisode d'hypoglycémie asymptomatique et documentée avec une glycémie inférieure à 50 mg/dl (65). Parmi celles qui ont eu une hypoglycémie, aucune n'a eu plus de 7% de l'ensemble de ses glycémies dans les valeurs basses. Aucune patiente n'a eu d'hypoglycémie sévère ou d'hypoglycémie symptomatique (65).

5. Évolution des recommandations concernant l'utilisation du glyburide

Aux États-Unis, l'utilisation du glyburide est passée de 7,4 % à 64,5 % entre 2000 et 2011 (52). Dans cette étude rétrospective sur une population de femmes ayant une assurance privée, 10778 femmes atteintes de DG traitées par glyburide (n=5 873) ou par insuline (n=4 905) ont été incluses. Parmi les femmes ayant reçu du glyburide, 7,8 % ont eu un changement de traitement pour une autre classe médicamenteuse ou ont augmenté leur dose, alors que cela ne concernait que 1,1 % des patientes ayant reçu de l'insuline. Cette augmentation de l'utilisation du glyburide peut s'expliquer par le fait que les hypoglycémifiants oraux ont un coût plus faible et sont mieux acceptés par les patientes que l'insuline, ce qui peut augmenter la satisfaction des patients et/ou leur observance.

En 2007, la « Fifth International Workshop-Conference on GDM » a reconnu l'utilisation du glyburide comme traitement d'appoint du DG (66), en précisant que le glyburide était une

option thérapeutique en cas de DG lorsqu'un traitement médicamenteux est nécessaire pour maintenir les taux de glycémie cibles (66). De plus, cette tendance à l'augmentation de l'utilisation du glyburide a suivi la publication de l'essai randomisé de Langer *et al* comparant le glyburide à l'insuline (39). Par la suite, d'autres études ayant évalué le glyburide dans le traitement du DG, notamment avec le risque d'augmentation de morbidité néonatale ont été publiées faisant évoluer les recommandations des sociétés savantes.

Les recommandations concernant l'utilisation des antidiabétiques oraux pendant la grossesse sont donc assez divergentes. Elles ont évolué en promouvant l'utilisation du glyburide en 2007 vers des recommandations plus récentes où ce médicament n'est pas préconisé en première intention pour le DG. Plus récemment, l'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), le National Institute for Health and Care Excellence (NICE) et l'American Diabetes Association (ADA) ont publié des recommandations qui restreignent l'utilisation du glyburide. Le bulletin de l'ACOG de 2017 indique que l'insuline doit être considérée comme le traitement de première ligne du diabète pendant la grossesse car elle ne traverse pas le placenta (67). Ces recommandations précisent que les hypoglycémisants oraux doivent être réservés aux femmes qui ne peuvent ou ne veulent pas utiliser l'insuline. Les recommandations de l'American Diabetes Association de 2017 (ADA) ont également stipulé que l'insuline est le médicament de choix pour le traitement de l'hyperglycémie dans le cas du DG avançant les mêmes arguments que l'ACOG (68). La metformine et le glyburide peuvent être utilisés, mais tous deux traversent le placenta avec la metformine qui traverse probablement dans une plus grande mesure que le glyburide (68). Enfin, la Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM) laisse une place à la metformine comme antidiabétique oral (69). Elle stipule que chez les femmes atteintes de DG dont l'hyperglycémie ne peut être contrôlée de manière adéquate, la metformine est une alternative pharmacologique de première ligne raisonnable et sûre à

l'insuline (69). Les recommandations françaises sur le diabète gestationnel ont été émises par le CNGOF en 2010 (53). Le CNGOF affirme que les données concernant le glibenclamide et la metformine semblent rassurantes, mais que des études complémentaires sont nécessaires avant d'envisager leur utilisation en routine pendant la grossesse (53). En France, les antidiabétiques oraux ne sont pas recommandés chez la femme enceinte (53).

Bien que des inquiétudes aient été soulevées quant à la fréquence des effets indésirables du glyburide sur les nouveau-nés, les preuves du bénéfice d'un agent oral par rapport à l'autre restent limitées (69). En 2008, les recommandations du NICE étaient larges et permettait le traitement du DG par l'insuline ou un agent hypoglycémiant par voie orale (metformine et glibenclamide). Elles préconisaient d'adapter le traitement des femmes atteintes de DG selon le profil glycémique et à l'acceptabilité de chaque femme (70). Cependant, le glibenclamide a été retiré des récentes recommandations du NICE en 2015 (71). Le NICE recommande la metformine en première intention si les objectifs glycémiques ne sont pas atteints avec le régime et l'exercice physique dans un délai de 1 à 2 semaines. En cas de contre-indication de la metformine pour la femme, l'insuline sera proposée (71).

Ces recommandations s'appuient sur une littérature pauvre avec des essais de mauvaise qualité non conçus pour évaluer la morbidité néonatale comme critère de jugement principal lors de la comparaison des hypoglycémiants oraux à l'insuline. Elles soulignent le fait que les antidiabétiques oraux traversent la barrière placentaire, et qu'il n'existe pas de données suffisantes sur la sécurité néonatale à long terme.

V. Insuline versus glyburide, essai randomisé INDAO

L'insuline sous-cutanée est le traitement de choix du traitement du DG, car ne passant pas la barrière placentaire. Cependant, le traitement par insuline nécessite plusieurs injections par jour et nécessite une éducation des patients à son utilisation ainsi qu'un suivi fréquent, ce qui peut réduire l'observance thérapeutique. Plusieurs études récentes ont montré une bonne efficacité des antidiabétiques oraux sur l'hyperglycémie dans le DG. De plus, ces thérapeutiques sont bien acceptées par les patientes, plus facilement gérables que l'insulinothérapie, ce qui pourrait avoir comme conséquence une meilleure compliance et observance des patientes. Le glyburide est le sulfamide hypoglycémiant qui a été le plus étudié.

En regard des données disponibles, le glyburide semble être un médicament efficace notamment sur le contrôle de l'équilibre glycémique et la tolérance maternelle par rapport à l'insuline, avec des données contradictoires sur les effets indésirables maternels ou néonataux en comparaison à l'insulinothérapie. La plupart des pays dont la France (53) ne recommandent donc pas son utilisation en première intention dans le traitement du DG.

Les données concernant le potentiel risque de la morbidité néonatale du traitement par glyburide dans le DG sont donc considérées comme insuffisantes, principalement pour des raisons de faiblesses méthodologiques : petits effectifs de la plupart des essais randomisés sans hypothèse clairement définie et sans calcul du nombre de sujets nécessaires (72–75), défaut de puissance pour démontrer une absence de différence dans le taux de survenue de complications néonatales entre les deux traitements dans le seul essai randomisé valide (39), et dans les méta-analyses (76,77) ou qualité moyenne avec hétérogénéité des critères rapportés, petits effectifs et biais inhérents aux études observationnelles (58,59,61,64). Les

méta-analyses d'essais randomisés comparant le glyburide à l'insuline ont rapporté une augmentation des risques de macrosomie et d'hypoglycémie néonatale avec le glyburide dans le traitement du DG (45,54,55,76,78,79), mais aucun de ces essais randomisés n'avait été conçu pour évaluer la morbidité néonatale comme critère de jugement principal .

Il était donc nécessaire de mieux comprendre l'impact exact du traitement oral du DG par glyburide sur la croissance fœtale *in utero* mais également sur le risque d'hypoglycémie néonatale. C'est ce qui a motivé l'essai INDAO qui est un essai thérapeutique de non-infériorité, multicentrique, randomisé dont l'objectif principal était de tester l'hypothèse que le glyburide per os était non inférieur à l'insulinothérapie sous cutanée pour la survenue de complications périnatales dans la prise en charge des femmes enceintes développant un DG nécessitant un traitement médicamenteux (80).

INDAO est un essai randomisé multicentrique de non-infériorité mené entre mai 2012 et novembre 2016 dans 13 hôpitaux universitaires de soins tertiaires français auprès de 914 femmes ayant une grossesse unique et un DG diagnostiqué entre 24 et 34 semaines d'aménorrhée (80). Le critère de jugement principal choisi était un critère associant des critères de morbidité néonatale reflétant l'hyperinsulinisme fœtal et donc la conséquence de l'exposition à l'hyperglycémie maternelle.

Tous les travaux issus de cette thèse s'appuient sur les données de cet essai dont nous allons présenter en détail dans cette partie la méthodologie ainsi que les principaux résultats.

1. Méthodologie de l'essai

a. Inclusion des patientes

Les patientes ont été recrutées parmi les femmes chez qui un DG a été diagnostiqué après une hyperglycémie par voie orale à 75 g avec une glycémie à jeun ≥ 92 mg/dl (5,1 mmol/l) et <126 mg/dl (7 mmol/l) et/ou une glycémie à 1h et 2h après 75g de glucose ≥ 180 mg/dl (10mmol/l) et ≥ 153 mg/dl (8,5 mmol/l) respectivement. Les patientes présentant un diabète préexistant à la grossesse, un diabète diagnostiqué avant 24 SA ainsi qu'un diagnostic initial de diabète avec une glycémie à jeun $> 1,26$ mg/dl ont été considérées comme des DT2 et n'ont pas été incluses dans l'étude. Les femmes ont été initialement traitées par un régime adapté selon leurs besoins individuels évalués lors d'une consultation diététique. Ce régime était associé à une incitation à l'activité sportive équivalente à 30mn de marche 3 à 5 fois par semaine si l'état obstétrical le permettait. Les patientes recevaient une éducation concernant l'utilisation des glucomètres pour l'auto-surveillance glycémique.

Les patientes éligibles pour la randomisation entre les deux stratégies thérapeutiques (glyburide et insuline) étaient celles dont l'objectif glycémique n'était pas atteint après 10 jours de régime diététique bien mené. On distinguait donc l'âge gestationnel au diagnostic du DG et l'âge gestationnel à la randomisation, la randomisation correspondant au moment où un traitement médicamenteux était indiqué.

Le schéma d'insulinothérapie était adapté en fonction des profils glycémiques des patientes et les habitudes des centres pour l'insulinothérapie. Le glyburide était administré le matin à jeun, comme décrit dans l'essai princeps de Langer *et al* (39). Dans les 2 groupes, la gestion consistait en une auto-surveillance 4 fois par jour, avec des objectifs de glycémie inférieurs à

95 mg/dl pour les valeurs à jeun et inférieurs à 120 mg/dl pour les valeurs postprandiales à 2 heures.

b. Posologie et modalités d'administration du glyburide

La dose de glyburide était initialement d'une prise le matin de 2,5mg/j per os avant le petit déjeuner et l'augmentation se faisait par paliers en fonction des glycémies jusqu'à une dose maximale totale de 20mg/jour et ce, jusqu'à l'obtention des objectifs glycémiques (glycémie à jeun <95 mg/dl et glycémie postprandiale à 2h <120 mg/dl).

Les consultations de suivi étaient fixées à J4, J8, J12, J16 et J21 puis tous les 7 jours. En cas d'au moins 2 valeurs hors objectifs depuis la dernière consultation, les doses de glyburide étaient progressivement augmentées. Si les objectifs glycémiques n'étaient pas atteints après un régime associé aux doses maximales de glyburide sur une période de 1 semaine, le traitement était remplacé par de l'insuline. En cas d'hypoglycémie symptomatique ou en cas de glycémie < 60 mg/dl, la dose de glyburide était diminuée au palier de glyburide précédent. Le traitement était poursuivi jusqu'à l'accouchement. Si le traitement était mal toléré en raison de la survenue trop fréquente d'hypoglycémies, le glyburide pouvait également être remplacé par l'insuline.

c. Suivi des patientes, chronologie des visites, contrôle glycémique

À chaque visite de suivi, les mesures des glycémies de la patiente et les doses de traitement depuis la visite précédente ont été renseignées. La surveillance consistait en une auto-surveillance 4 fois par jour, avec des objectifs de glycémie inférieurs à 95 mg/dl pour les valeurs à jeun et inférieurs à 120 mg/dl pour les valeurs postprandiales sur 2 heures. Le contrôle glycémique global pour chaque femme pendant le traitement a été quantifié en calculant le pourcentage de valeurs de glycémies hors objectif, depuis la randomisation

jusqu'à l'accouchement. Cette donnée était également disponible à chaque consultation correspondant au contrôle glycémique entre chaque consultation de suivi et la précédente. Deux catégories de contrôle glycémique ont été définies et estimées séparément pour la glycémie à jeun et postprandiale : "contrôle glycémique optimal" ($\leq 20\%$ des valeurs de glycémie dépassant les objectifs) et "contrôle glycémique sous-optimal" (pourcentage $> 20\%$). Le contenu de ces visites ne différait pas des consultations habituelles de prise en charge des patientes présentant un DG dans les maternités participantes. Lors de ces consultations étaient recherchés de potentiels effets secondaires ou évènements indésirables.

d. Surveillance des nouveau-nés

Une alimentation précoce et fréquente dès la salle de naissance est préconisée : à partir de 30 minutes de vie et toutes les 2h ou 3h au sein et/ou au biberon. Une glycémie capillaire (dextro) était réalisée avant la 1^{ère} tétée puis la glycémie capillaire était mesurée avant le deuxième repas puis toutes les 3 heures, avant l'alimentation, pour les nouveau-nés asymptomatiques. Toute hypoglycémie devait être contrôlée par une glycémie sanguine envoyée au laboratoire sur tube fluoré. La présence de signes cliniques anormaux était une indication à la surveillance de la glycémie à tout moment où ces signes cliniques étaient observés.

La surveillance des nouveau-nés était identique à celle qui est habituellement recommandée pour les nouveau-nés de mères diabétiques.

e. Variables recueillies

Les variables recueillies comprenaient :

- les caractéristiques générales de la patiente : âge, parité, prise de poids, antécédent de diabète,

- la dose quotidienne de glyburide reçue par la femme, la dernière dose de glyburide, le délai entre la dernière prise de glyburide et l'accouchement
- Le contrôle glycémique à jeun et postprandial, l'hypoglycémie maternelle (glycémie < 60 mg/dl) et la dose de glyburide
- Les issues néonatales telles que la macrosomie, l'hypoglycémie, l'hyperbilirubinémie

f. Calcul du nombre de sujets nécessaires

Avec une puissance de 80% et un seuil de signification de 5%, 450 sujets par groupe étaient nécessaires pour démontrer que le traitement par glyburide n'était pas considéré comme inférieur au traitement par insuline si la fréquence du critère de jugement composite ne dépassait pas 25% avec le glyburide alors qu'elle était de 18% avec l'insuline (calcul effectué avec une marge de non-infériorité de 7% et en considérant que 20% des patientes traitées avec glyburide changeront pour l'insuline et que la moitié des patientes acceptera la randomisation).

g. Approbation éthique

Le protocole de l'essai INDAO a été approuvé par le comité d'éthique de l'hôpital de Poissy St-Germain (France) et enregistré dans clinicaltrials.gov Identifier sous le numéro NCT01731431. Les données ont été collectées par les membres du personnel de recherche sur un eCRF à partir des dossiers médicaux, y compris les données relatives aux antécédents médicaux et aux résultats.

2. Critère de jugement principal

Le critère principal de jugement était un critère composite regroupant les complications néonatales associées au DG. Chaque composant reflète les effets indésirables potentiels de l'exposition à l'hyperglycémie maternelle et par conséquent de l'hyperinsulinisme fœtal. Les critères retenus pour ce critère composite étaient la macrosomie fœtale ou le poids de naissance > 90^{ème} percentile pour l'âge gestationnel, l'hypoglycémie néonatale et l'hyperbilirubinémie néonatale. La macrosomie a été définie comme un poids de naissance supérieur à 4000 g ou supérieur au 90^{ème} percentile pour l'âge gestationnel (81). L'hypoglycémie a été définie dans l'analyse comme une glycémie inférieure à 36 mg/dl (<2 mmol/L) après 2 heures de vie ou une valeur < 45 mg/dl (2.5 mmol/l) associée à des signes cliniques évocateurs d'hypoglycémie et résolutifs après l'administration de glucose. L'hyperbilirubinémie a été définie comme la nécessité d'une photothérapie sans autre cause d'ictère.

3. Résultats de l'essai

Les femmes qui ont eu besoin d'un traitement pharmacologique après 10 jours d'intervention alimentaire ont été randomisées pour recevoir du glyburide (n=460) ou de l'insuline (n=454). Parmi les 448 femmes dans le groupe glyburide, 81 (18 %) sont passées à l'insuline (switch). La fréquence du critère de jugement primaire était de 27,6 % dans le groupe glyburide et de 23,4 % dans le groupe insuline (différence=4,2 % ; IC unilatéral 97,5 % : $-\infty$ -10,5 % ; p=0,19). La limite supérieure de confiance dépassait la borne de non-infériorité de 7 % fixée dans le protocole et n'a donc pas plus conclure à la non-infériorité du glyburide en comparaison avec l'insuline sur la survenue de complications néonatales.

Le contrôle glycémique était significativement meilleur pendant la grossesse dans le groupe glyburide, avec 71,7 % des femmes ayant maintenu un contrôle optimal de la glycémie à jeun, versus 63,2 % dans le groupe insuline (différence : 8,5 % ; IC 95 % : 1,9 %-15,2 %). Un contrôle optimal de la glycémie postprandiale a été obtenu chez 57,8 % des femmes dans le groupe glyburide et 49,3 % dans le groupe insuline (différence : 8,5 % ; IC 95 % : 1,5 %-15,6 %).

Davantage de femmes dans le groupe glyburide ont eu un épisode d'hypoglycémie sévère (définie par une glycémie <40 mg/dl) : 13 (3,8%) dans le groupe glyburide versus 4 (1,0%) dans le groupe insuline (différence : 2,8% ; IC 95% : 0,2%-5,5% ; p=0,02). Parmi elles, 2 femmes dans le groupe glyburide et 1 femme dans le groupe insuline ont rapporté des symptômes avec une incapacité d'auto-traitement de leurs symptômes. Le glyburide était donc associé à un meilleur contrôle de la glycémie malgré un risque accru d'hypoglycémie maternelle (80,82).

Les données de l'essai n'ont donc pas permis de conclure que le glyburide n'était pas inférieur à l'insuline dans la prévention des complications périnatales. Les résultats ont cependant suggéré que l'augmentation des complications néonatales pourrait ne pas dépasser 10,5 % par rapport à l'insuline et concernait principalement des hypoglycémies néonatales transitoires. Ce résultat doit être mis en balance avec la facilité d'utilisation du glyburide par rapport à l'insuline pouvant permettre une meilleure observance des patientes, après information des patientes sur la balance bénéfices-risques de ce traitement. Il pose donc la question d'étudier les différents aspects du traitement par glyburide pour discuter de sa place dans la prise en charge du DG.

4. Perspectives

A la lecture des résultats d'INDAO, nous avons souhaité à travers ce travail de thèse, étudier quels facteurs étaient impliqués dans la survenue de l'hypoglycémie néonatale mais également dans la survenue de l'hypoglycémie maternelle.

a. Hypoglycémie néonatale

L'existence d'un passage placentaire a très peu été étudié, car il a été longtemps supposé qu'il n'existait pas de passage placentaire du glyburide (39,60). Cependant, des études récentes montrent un passage placentaire avec une concentration de glyburide dans le sang du cordon à la naissance (47,51). Cependant, la question du rôle de ce passage placentaire sur la survenue de l'hypoglycémie néonatale demeure car celle-ci n'a jamais été étudiée.

L'hypoglycémie néonatale est une complication du DG non traité, qui résulterait d'un hyperinsulinisme fœtal selon l'hypothèse de Pedersen (22). La macrosomie, quant à elle, est également une complication du DG via le même mécanisme d'hyperinsulinisme fœtal. Mais l'hypoglycémie néonatale ne survient pas systématiquement chez les fœtus macrosomes ou LGA. Inversement, les nouveau-nés macrosomes ne présentent pas systématiquement d'hypoglycémie néonatale. Des études ont évoqué la notion de macrosomes « symétriques » et macrosomes « asymétriques » pour traduire la répartition de la masse grasse inhomogène chez le nouveau-né (83). Ces auteurs ont rapporté une probable augmentation du risque hypoglycémie néonatale en cas de macrosomie « asymétrique ».

Ainsi, la question du rôle de la répartition de la masse grasse chez le nouveau-né de mère diabétique dans la survenue de l'hypoglycémie, et ce indépendamment du traitement du DG, demeure.

b. Hypoglycémie maternelle

L'élimination des sulfamides hypoglycémisants est génétiquement déterminée : le glyburide est éliminé essentiellement par un métabolisme hépatique, l'enzyme du cytochrome P450 2C9 (CYP2C9). Environ 10% de la population est porteuse d'un variant génétique délétère du CYP2C9 (*CYP2C9*3*) qui ralentit l'élimination du glyburide induisant des concentrations plasmatiques trois fois plus élevées que le reste de la population (84). Des études ont montré chez les sujets avec un DT2 que les porteurs du variant génétique délétère *CYP2C9*3* présenteraient plus d'épisodes d'hypoglycémie. On peut donc émettre l'hypothèse que la population de femmes enceintes avec DG traitée par glyburide et porteuses du variant génétique délétère perte de fonction *CYP2C9*3* serait plus à risque d'hypoglycémie. Chez les femmes ayant un DG traité par glyburide, l'association entre le portage du variant génétique perte de fonction *CYP2C9*3* et les épisodes d'hypoglycémie n'a jamais été étudiée.

Chapitre 2 : OBJECTIFS DE LA THESE

Ce travail de thèse s'articule autour de 3 grands axes dont l'objectif est de mieux comprendre les déterminants de l'hypoglycémie maternelle et de l'hypoglycémie néonatale chez les femmes enceintes présentant un DG .

1. Passage placentaire du glyburide

Le premier axe était de quantifier le passage transplacentaire de glyburide à l'accouchement ainsi que d'étudier l'association entre la concentration de glyburide dans le sang du cordon et le risque d'hypoglycémie néonatale chez les nouveau-nés de mères atteintes de DG traitées par glyburide.

2. Risque d'hypoglycémie néonatale en fonction des mesures anthropométriques

Le deuxième axe de la thèse était d'étudier l'association entre les mesures anthropométriques néonatales (rapport poids-taille et poids de naissance) et l'hypoglycémie néonatale chez les femmes traitées soit par insuline, soit par glyburide pour un DG.

3. Cytochrome P450 2C9 dans le métabolisme maternel du glyburide

Enfin, le troisième axe de la thèse était de déterminer l'association entre les épisodes d'hypoglycémie maternelle et les variants à fonction diminuée *CYP2C9*2* et les variants perte de fonction *CYP2C9*3* et *OATP1B3*4*, puis dans un deuxième temps d'étudier l'association entre la dose quotidienne de glyburide et les porteurs de variants perte de fonction et diminution de fonction.

Chapitre 3 : PASSAGE TRANSPLACENTAIRE DU GLYBURIDE

Ce chapitre a fait l'objet d'un article publié dans *Plos One* (85). L'article est en annexe n°1.

I. Introduction

Dans les années 1990, les études réalisées *in vitro* rapportaient l'absence de transfert materno-fœtal de glyburide dans les placentas à terme perfusés immédiatement après l'accouchement (86,87). En accord avec ces résultats, l'étude de Langer *et al* n'a pas retrouvé de passage placentaire du glyburide (39). En effet, le glyburide n'était pas détecté dans le sang du cordon ombilical des nouveau-né de mères traitées par glyburide (39). Chez 12 femmes choisies au hasard parmi les femmes recevant du glyburide, le glyburide a été mesuré en même temps dans le sang maternel et le sang du cordon. Les concentrations de glyburide dans le sang maternel étaient comprises entre 50 et 150 ng par millilitre, alors que le glyburide était indétectable dans le sérum du cordon.

Cependant, des études ultérieures ont permis de montrer que la limite de détection du glyburide était particulièrement élevée dans cette étude. En effet, deux études plus récentes ont montré l'existence d'un passage placentaire grâce à l'amélioration des techniques de dosage du glyburide (47,51). Le rapport moyen estimé de la concentration de glyburide dans le sang maternel et le cordon ombilical à l'accouchement était de 70% (47).

L'hypoglycémie néonatale est généralement considérée comme une conséquence de l'hyperinsulinisme fœtal induit par l'hyperglycémie maternelle dans le contexte d'un DG mal contrôlé (88). Cependant, on ne sait pas très bien, chez les femmes enceintes traitées au glyburide, si l'hypoglycémie néonatale est associée au passage placentaire de glyburide.

Notre objectif était de quantifier le passage transplacentaire de glyburide à l'accouchement et d'étudier l'association entre la concentration de glyburide dans le sang du cordon et le risque d'hypoglycémie néonatale chez les nouveau-nés de mères atteintes de DG traités par glyburide.

II. Matériel & méthodes

Les données de l'étude sont issues de l'essai randomisé INDAO (Chapitre 1. section V) dans lequel des échantillons de sang maternel et de cordon ombilical ont été recueillis pour évaluer le passage transplacentaire de glyburide. Cette étude ancillaire a été menée dans le centre hospitalier universitaire de Bicêtre et un consentement écrit était signé pour les patientes.

Toutes les patientes de ce centre qui étaient randomisées dans le groupe glyburide et qui recevaient encore du glyburide à l'accouchement ont été invitées à y participer. L'étude a consisté à prélever 5 ml de sang de la mère et 5 ml de sang du cordon ombilical au moment de l'accouchement. Les analyses des échantillons de sang ont été effectuées par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. La limite de quantification était de 1 ng/ml, et la méthode était linéaire entre 1 et 500 ng/ml.

Le passage transplacentaire de glyburide a été quantifié par le rapport de la concentration de glyburide dans le sang de cordon ombilical sur la concentration dans le sang maternel (89).

L'analyse statistique a été effectuée selon le plan suivant : nous avons d'abord étudié la relation entre les concentrations maternelle et fœtale de glyburide et ainsi quantifié le passage transplacentaire de glyburide. Ensuite, nous avons modélisé la relation entre la concentration de glyburide dans le sang maternel et au cordon et le temps écoulé depuis la

dernière prise de glyburide. Enfin, nous avons modélisé l'association entre la concentration de glyburide chez le fœtus et le risque de survenue d'une hypoglycémie néonatale.

Les variables quantitatives ont été décrites par leurs moyennes et écart-type (ET) ou médianes et l'intervalle interquartile (IQR) selon leur distribution. Les comparaisons ont été effectuées à l'aide du test t de Student ou des tests du χ^2 pour les variables qualitatives. Les relations entre les variables ont été modélisées par des régressions linéaires ou logistiques utilisant des polynômes fractionnaires qui donnent un ajustement optimal des données (90). Les analyses statistiques ont été réalisées avec Stata 14 (91).

III. Résultats

Sur les 914 patientes incluses dans l'essai randomisé INDAO, 173 étaient incluses dans le centre hospitalier universitaire Bicêtre. Sur ces 173 patientes, 87 ont été randomisés dans le groupe glyburide (Figure 3) : 4 patientes ont été exclues de l'essai (diabète de type 2, pharmacothérapie inutile, perte de vue, traitement refusé), 18 patientes ont eu un changement de traitement et sont passées à l'insulinothérapie, en raison d'un contrôle glycémique insuffisant. Enfin, 65 patientes étaient éligibles pour l'étude, dont 18 patientes n'avaient pas d'échantillon disponible. De plus, une patiente a été exclue en raison de concentrations sanguines aberrantes isolées malgré la vérification des échantillons biologiques (100 ng/ml dans le sang du cordon ombilical et 150 ng/ml dans le sang maternel) ; le nouveau-né de cette patiente n'a pas présenté d'hypoglycémie. Finalement, l'échantillon était composé de 46 patientes ayant des dosages biologiques réalisés au moment de l'accouchement.

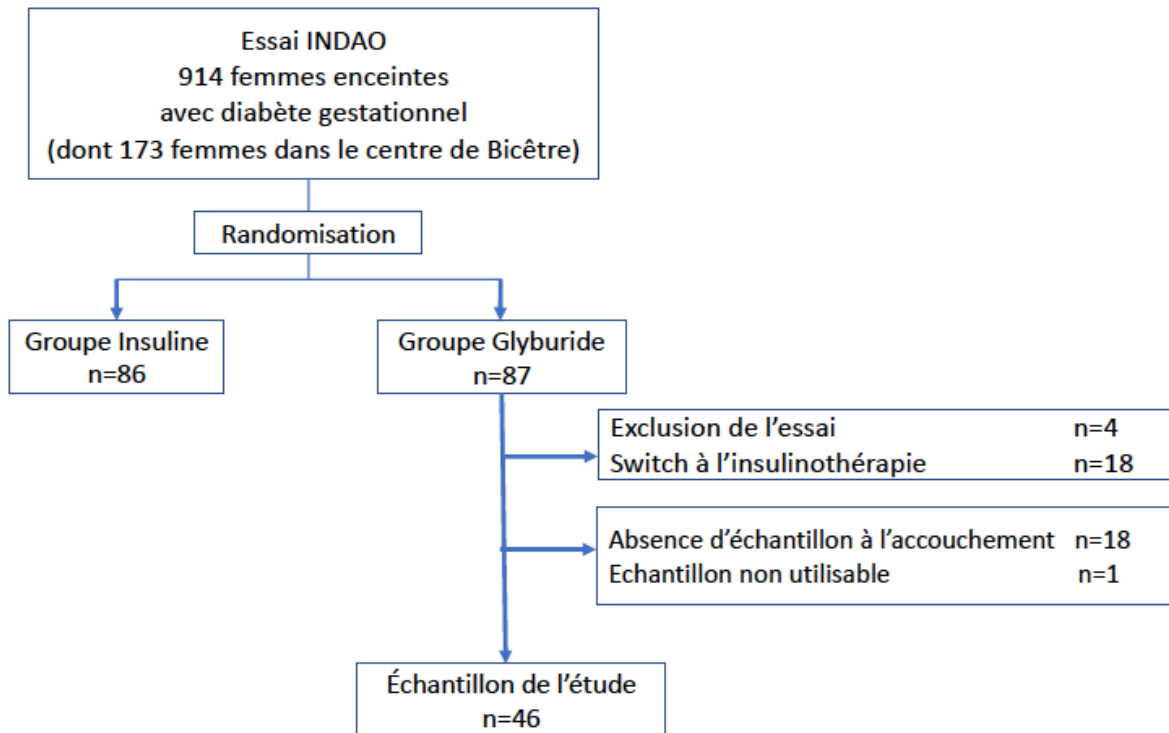


Figure 3. Diagramme de flux, étude ancillaire de INDAO sur le passage placentaire du glyburide

Parmi les 65 patientes éligibles, 19 patientes n'avaient pas d'échantillon de sang à l'accouchement ou avaient un échantillon de sang non utilisable et ont donc été exclues. Ces 19 patientes avaient des caractéristiques similaires aux 46 patientes incluses dans l'échantillon (tableau 1). En particulier, la qualité du contrôle glycémique pendant la grossesse était similaire dans ces deux groupes. Les caractéristiques générales des 46 patientes sont présentées dans le tableau 1.

Caractéristiques	Échantillon	Absence d'échantillon	p
	n=46	n=19	
Age (années)	30,9 (5,0)	32,6 (5,0)	0,22
Multiparité	31 (67,4%)	11 (57,9%)	0,47
IMC avant la grossesse (kg/m ²)	26,1 (3,7)	26,3 (4,6)	0,85
Prise de poids durant la grossesse (kg)	11,6 (5,6)	9,0 (6,2)	0,38
Antécédent de diabète gestationnel	9 (19,6%)	4 (21,0%)	0,89
Age gestationnel au diagnostic (SA ⁺ jours)	26 ⁺⁴ [25 ⁺⁰ -27 ⁺¹]	26 ⁺⁰ [25 ⁺⁰ -26 ⁺⁰]	0,09
Age gestationnel à la randomisation (SA ⁺ jours)	32 ⁺¹ [31 ⁺⁰ -34 ⁺¹]	30 ⁺⁴ [29 ⁺⁴ -32 ⁺¹]	0,02
Contrôle glycémique pendant la grossesse			
Contrôle glycémique à jeun optimal*	35/42 (83,3%)	15/17 (88,2%)	0,84
Contrôle glycémique postprandial optimal [†]	24/42 (57,1%)	14/17 (82,3%)	0,20
Age gestationnel à l'accouchement (SA ⁺ jours)	38 ⁺⁰ [37 ⁺⁵ -39 ⁺⁰]	39 ⁺⁰ [37 ⁺⁰ -40 ⁺⁰]	0,48
Voie d'accouchement			
Mise en travail spontanée	14 (30,4%)	9 (47,4%)	0,28
Induction du travail	29 (63,0%)	10 (52,6%)	
Césarienne programmée	3 (6,6%)	0	

Tableau 1. Caractéristiques générales des 46 patientes traitées par glyburide comparées aux 19 patientes n'ayant pas de prélèvement disponible à l'accouchement

Les données sont exprimées en n (%), moyenne (écart-type), ou médiane [intervalle interquartile] sauf indication contraire.

IMC : indice de masse corporelle

* Le contrôle glycémique à jeun optimal est défini par une proportion inférieure à 20% de glycémies supérieures à 95 mg/dl

† Le contrôle glycémique postprandial optimal est défini par une proportion inférieure à 20% de glycémies supérieures à 120 mg/dl

Le tableau 2 indique les concentrations de glyburide dans le cordon ombilical et dans le sang maternel à l'accouchement. Le rapport moyen entre la concentration dans le cordon et celle dans le sang maternel était de 0,62 (IC à 95 % [0,50 - 0,74]).

Caractéristiques	Médiane [IQR*]
Concentration de glyburide dans le sang maternel à l'accouchement (ng/ml)	9,9 [3,7-27,0]
Concentration de glyburide dans le sang du cordon ombilical à l'accouchement (ng/ml)	6,8 [2,1-14,8]
Rapport entre les concentrations de glyburide dans le sang du cordon ombilical et dans le sang maternel	0,62 (0,12) **
Dosage quotidien de glyburide en fin de grossesse (mg)	7,5 [3,25-10,0]
Temps écoulé depuis la dernière prise de glyburide par voie orale (heures)	16,0 [10,5-24,2]

Tableau 2. Caractéristiques pharmacologiques des échantillons de sang du cordon et du sang maternel, n= 46

**Les données sont exprimées en moyenne (écart-type).

La dernière dose de glyburide prise avant l'accouchement était associée de manière significative et positive à la concentration de glyburide dans le sang du cordon ($p=0,003$) (Figure 4). Cette association était également significative entre la dernière dose de glyburide prise avant l'accouchement et la concentration de glyburide dans le sang maternel ($p=0,007$) (Figure 5).

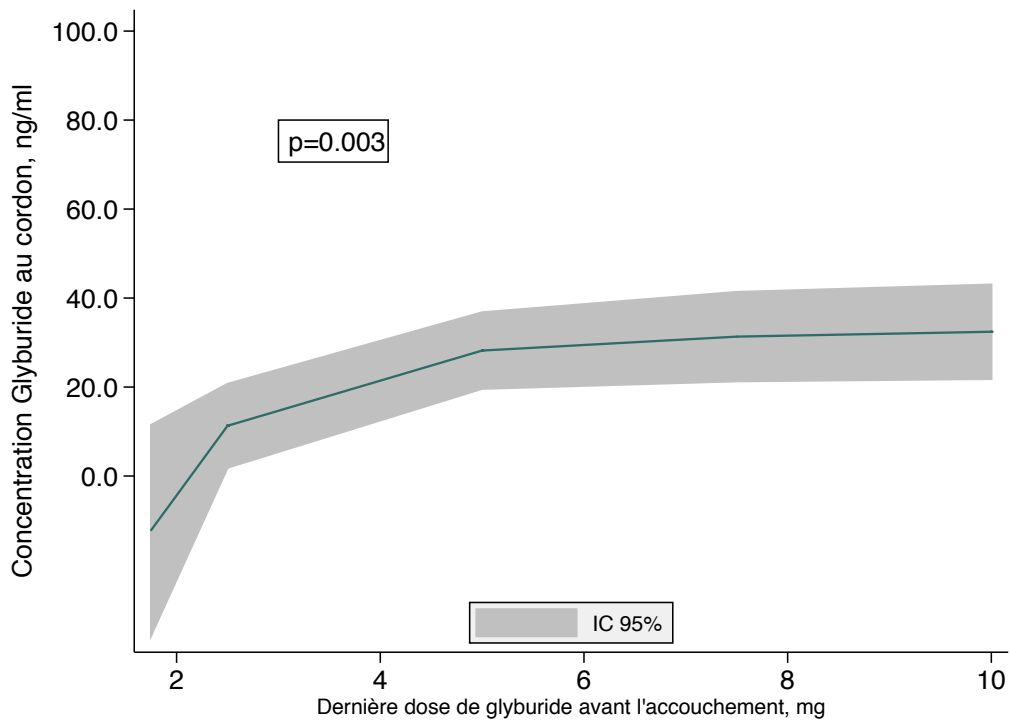


Figure 4. Concentration de glyburide dans le sang du cordon en fonction de la dernière dose de glyburide avant l'accouchement.

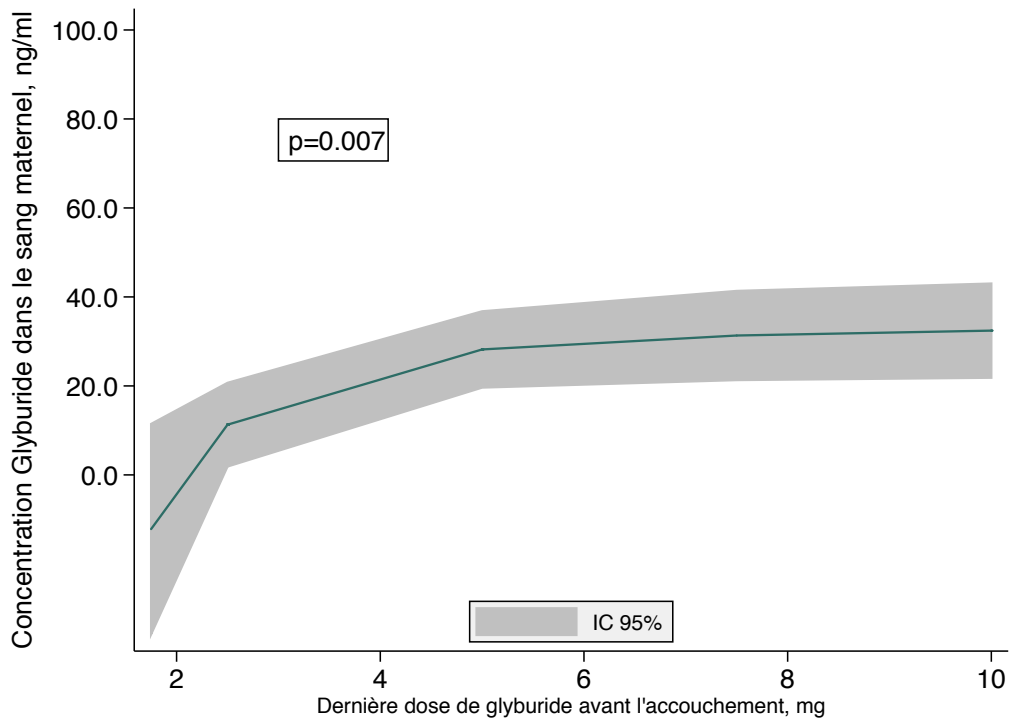


Figure 5. Concentration de glyburide dans le sang maternel en fonction de la dernière dose de glyburide avant l'accouchement.

Il y avait une relation forte et significative ($p < 0,001$) entre la concentration de glyburide dans le cordon ombilical et la concentration dans le sang maternel (Figure 6).

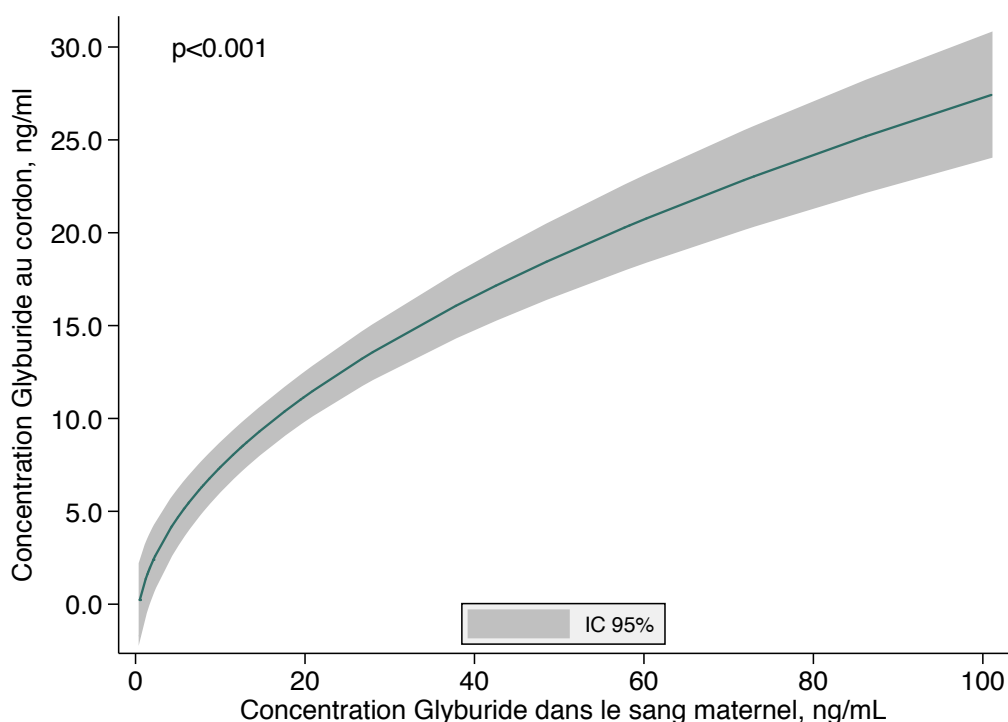


Figure 6 Concentration de glyburide dans le sang du cordon ombilical en fonction de la concentration dans le sang maternel à l'accouchement.

Le temps médian écoulé entre la dernière prise orale de glyburide et l'accouchement était de 16 heures (IQR [10,5-24,2]). La concentration de glyburide dans le sang ombilical diminuait de façon importante et significative avec l'augmentation du temps écoulé entre la dernière prise de glyburide et l'accouchement, après ajustement sur la dernière dose de glyburide prise ($p < 0,001$) (Figure 7a). De même, la concentration de glyburide dans le sang maternel diminuait significativement avec l'augmentation du temps écoulé depuis la dernière prise de glyburide (Figure 7b). Ainsi, cette modélisation montre que la concentration moyenne au cordon ombilical était inférieure à 5 ng/ml à 24 heures suivant la dernière prise de glyburide.

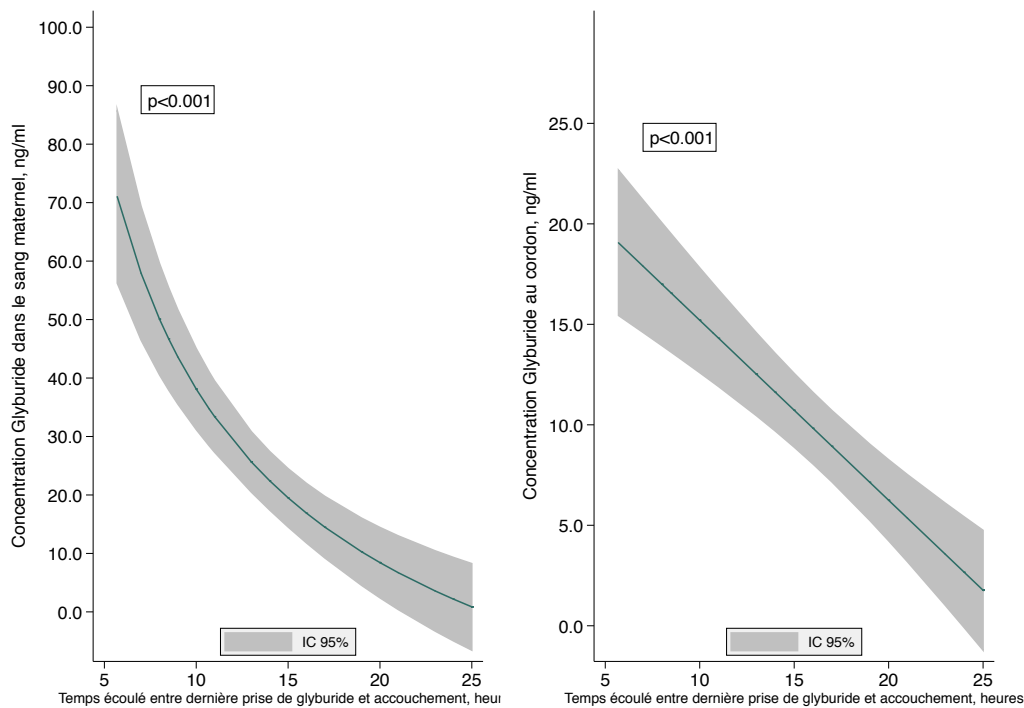


Figure 7. Concentrations de glyburide dans le sang du cordon (a) et dans le sang maternel (b) à l'accouchement en fonction du temps écoulé depuis la dernière prise de glyburide par voie orale. Les courbes ont été modélisées à l'aide de polynômes fractionnaires et ajustées sur la dernière dose de glyburide. Elles ont été établies pour la valeur moyenne de la dernière dose de glyburide.

La proportion d'hypoglycémie néonatale était de 17,4 % (8/46) chez les 46 nouveau-nés de l'étude et augmentait significativement en fonction de la concentration de glyburide dans le sang du cordon ombilical ($p < 0,01$) (Figure 8). La modélisation par un polynôme fractionnaire a montré une relation linéaire (en unité logit) qui peut être résumée par un OR d'hypoglycémie égal à 3,70 (IC 95% : 1,40-9,77) pour chaque augmentation de 10 ng/ml de la concentration de glyburide dans le sang de cordon. Cette forte association est restée inchangée après ajustement sur la macrosomie néonatale (OR ajusté = 4,65 ; IC 95% : 1,36-15,94, $p = 0,01$). Cependant, aucun nouveau-né n'a présenté de signes cliniques graves d'hypoglycémie. Aucun

nouveau-né n'a été admis en unité de soins intensifs en raison d'une hypoglycémie ou pour un traitement de l'hypoglycémie.

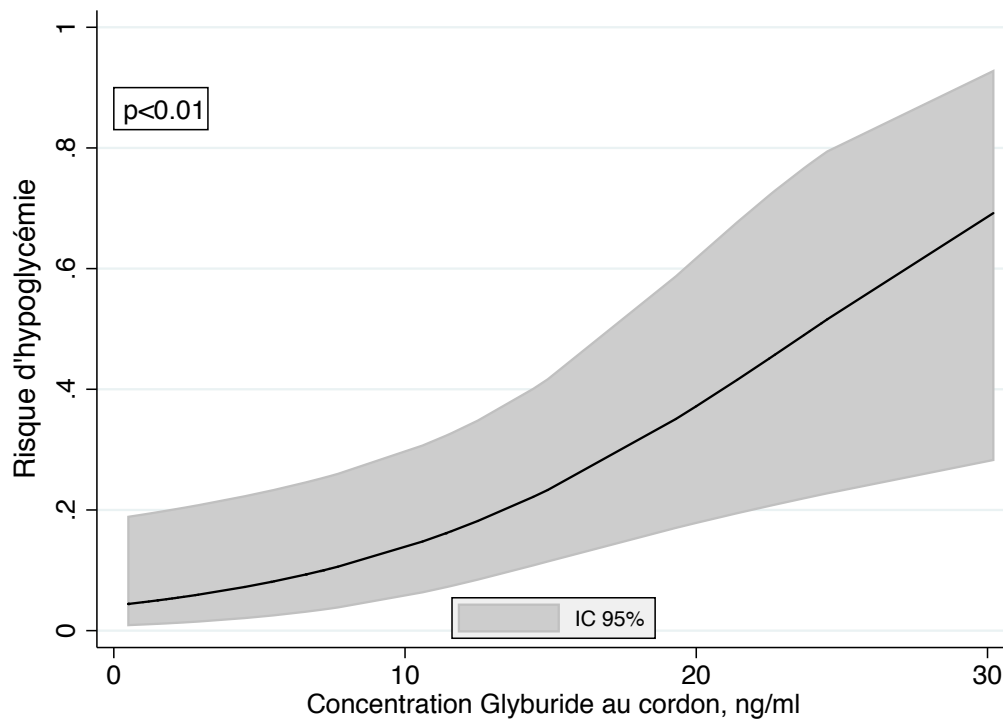


Figure 8. Risque d'hypoglycémie en fonction de la concentration de glyburide dans le sang du cordon.

La courbe a été modélisée à l'aide de polynômes fractionnaires.

IV. Discussion

Nos résultats confirment le passage placentaire du glyburide, avec un rapport fœtus/mère de la concentration de glyburide à 0,62 (IC 95% [0,50 – 0,74]). La concentration de glyburide dans le sang du cordon ombilical diminuait considérablement après la dernière prise maternelle de glyburide. Le risque d'hypoglycémie néonatale augmentait de manière significative avec l'augmentation de la concentration de glyburide dans le cordon ombilical, indépendamment de la macrosomie néonatale. En outre, aucun nouveau-né n'a présenté de signes cliniques graves d'hypoglycémie.

Notre étude est la première à étudier l'ensemble du processus du passage placentaire de glyburide de la prise maternelle de glyburide à la concentration de glyburide dans le cordon ombilical, en évaluant le risque d'hypoglycémie néonatale à l'aide de techniques de dosage beaucoup plus sensibles que celles préalablement utilisées dans les études (39,86,87). Cependant, malgré la courte demi-vie d'élimination du glyburide (environ 4 à 10 heures chez les femmes enceintes (92,93)), les données pharmacocinétiques n'ont pas pu être évaluées car cela nécessitait des prélèvements sanguins réguliers et répétés dans le temps. En effet, les propriétés pharmacocinétiques du glyburide sont modifiées chez une patiente présentant un DG pendant la grossesse (47). Hebert *et al* ont comparé les propriétés pharmacocinétiques du glyburide entre 40 femmes traitées pour un DG pendant la grossesse et 40 femmes traitées pour un diabète de type 2 en dehors de la grossesse (47). Ils ont constaté que la concentration sanguine maternelle était deux fois moins élevée pendant la grossesse. Après administration orale, la clairance du glyburide était plus importante chez les femmes enceintes (17,1 L/heure) que chez les femmes non enceintes (8,3 L/heure).

Nos résultats concordent avec deux études précédentes sur le passage transplacentaire du glyburide (47,51). En 2009, Hebert *et al* ont publié la première étude visant à évaluer le passage transplacentaire et ont rapporté un rapport de 70% pour la concentration de glyburide dans le cordon ombilical et sang maternel à l'accouchement chez 40 patientes atteintes de DG traitées par glyburide (47). Schwartz *et al* ont trouvé une faible relation inverse entre la concentration de glyburide dans le cordon ombilical et les taux de glycémie néonatale à 30-40 minutes de vie (51).

Notre étude confirme donc que le glyburide traverse effectivement la barrière placentaire. En raison de la taille plus importante de notre échantillon par rapport aux études précédentes, notre étude donne également une estimation plus précise du rapport entre les concentrations dans le cordon ombilical et dans le sang maternel. L'allure et la force des relations ont aussi été évaluées avec plus de précision puisqu'elles ont été modélisées avec des polynômes fractionnaires. En particulier, nous avons souligné l'importance du temps écoulé depuis la dernière prise de glyburide par la mère. Après 24 heures, la concentration de glyburide dans le cordon ombilical était inférieure à 5 ng/ml. Combiné à la relation entre la concentration de glyburide dans le cordon ombilical et le risque d'hypoglycémie, cela suggère que le risque d'hypoglycémie néonatale peut être réduit à moins de 15% si le temps écoulé depuis la dernière prise est porté à 24 heures.

Les limites potentielles de cette étude sont la taille de l'échantillon et la non-disponibilité de 19 dosages. D'autres analyses, du C-peptide par exemple, pourraient également éclairer le mécanisme de l'hypoglycémie néonatale. Une concentration élevée de peptide C serait compatible avec la stimulation des cellules β -pancréatiques et donc avec la stimulation foetale par le glyburide. Notre étude ouvre la possibilité au fait que l'hypoglycémie néonatale pourrait être réduite en arrêtant le glyburide dès que possible, et idéalement 24 heures avant la

naissance (début du travail ou césarienne). Cela peut se faire en conseillant à la femme de ne pas prendre son traitement ou en passant à l'insuline lorsqu'elle est hospitalisée pour un accouchement à venir. Cependant, la préoccupation demeure quant à l'exposition du fœtus au glyburide sur la morbidité potentielle à long terme associée à l'axe endocrinien de l'enfant. De nombreux facteurs, qui mériteraient d'être étudiés plus en profondeur, sont impliqués dans la concentration maternelle de glyburide et donc dans l'exposition du fœtus à cette molécule. Il existe des variations interindividuelles qui peuvent être expliquées par les polymorphismes génétiques du cytochrome chez les femmes car le glyburide est partiellement métabolisé par le foie, avec l'implication du cytochrome P450 2C9 (94). Les polymorphismes génétiques du cytochrome chez les femmes sont étudiés dans le chapitre 5 dans le cadre de cette thèse. Les porteurs du variant CYP2C9 ont une clairance orale diminuée du glyburide. Ainsi, le polymorphisme génétique du CYP2C9 pourrait influencer les concentrations de glyburide et les effets secondaires comme l'hypoglycémie néonatale. De plus, Kraemer *et al* ont publié la première étude montrant l'existence d'un efflux placentaire par rapport à un gradient de concentration en utilisant un modèle de perfusion placentaire (95). Les transporteurs placentaires jouent un rôle important dans l'exposition du fœtus aux médicaments et peuvent donc expliquer ce processus d'efflux (96,97). Cependant, la variabilité interindividuelle de l'expression placentaire de ces protéines n'a pas été étudiée. Enfin, certains auteurs ont montré que le foie du fœtus humain métabolise le glyburide et que la CYP3A7 est la principale enzyme responsable de ce métabolisme (98). Ils ont également montré que la teneur en protéine CYP3A7 microsomale dans le foie fœtal humain n'était pas affectée par le sexe, le génotype ou l'âge gestationnel du fœtus. Des travaux supplémentaires sont nécessaires sur les issues à long terme des enfants de mères diabétiques traités par glyburide pendant la grossesse.

V. Conclusion

En raison du passage placentaire du glyburide, son administration dans les quelques heures précédant l'accouchement est associée à un risque d'hypoglycémie néonatale, qui est cependant peu important et réversible. Ce risque peut être limité dans certains cas par l'arrêt du traitement dans un délai suffisant avant l'accouchement (notamment en cas de naissance programmée : césarienne programmée, déclenchement du travail) ainsi qu'en prévenant la patiente de ne pas prendre son traitement lorsque les premières contractions de travail surviennent.

Chapitre 4 : RISQUE D'HYPOGLYCEMIE NEONATALE EN FONCTION DES MESURES ANTHROPOMETRIQUES

Ce chapitre fait l'objet d'un article soumis dans le journal *Archives of Disease in Childhood: Fetal & Neonatal*. La version soumise est en annexe n°2 à la fin de la thèse.

I. Introduction

La définition de l'hypoglycémie néonatale est controversée dans la littérature (99) et son incidence varie de 7 % à 16 %, selon les auteurs (36,37,100). Des facteurs de risque maternels et néonataux de l'hypoglycémie ont été rapportés, tels qu'un mauvais contrôle glycémique maternel, la prise en charge du diabète gestationnel, la macrosomie, la petite taille pour l'âge gestationnel et la prématurité (24,85,99,100).

L'étude HAPO (Chapitre 1, section II.2.a) suggère qu'il existe une relation entre la glycémie maternelle et la production d'insuline par le fœtus (24) et montre que la fréquence de l'hypoglycémie néonatale tend à augmenter avec la glycémie maternelle. En effet, l'hypoglycémie est une conséquence bien connue de l'hyperinsulinisme fœtal chez les nouveau-nés de mères ayant un DG non traité (38) ou mal contrôlé (101,102). La macrosomie est également liée à l'hyperinsulinisme (24) et a été rapportée comme étant associée à l'hypoglycémie, indépendamment du diabète maternel (103).

Des études incluant des macrosomes nés de mères non diabétiques ou des nouveau-nés de femmes diabétiques traitées par insuline ou glyburide pour un DG ou un DT2 ont rapporté un sur-risque d'hypoglycémie en cas de macrosomie asymétrique (104–106). Ces résultats suggèrent que le rôle de la répartition du poids et de la masse grasse néonatale pourrait être plus important que le rôle du poids lui-même dans le risque d'hypoglycémie néonatale.

Plusieurs études ont tenté d'identifier les mesures anthropométriques qui reflètent le mieux la corpulence chez les nouveau-nés. Dans une étude rétrospective, il a été démontré que

l'indice pondéral (IP, défini comme le poids de naissance (g)/taille (cm)³ x 100), était un facteur prédictif important de la survenue d'une hypoglycémie néonatale chez les nouveau-nés de femmes traitées par insuline ou glyburide pour un DG ou un DT2 (83).

Une étude rétrospective menée chez des femmes non diabétiques, incluant 2766 nouveau-nés macrosomes de mères non diabétiques appariés à 2766 nouveau-nés témoins dans un groupe contrôle, a montré un risque accru d'hypoglycémie néonatale chez les nouveau-nés macrosomes asymétriques. L'indice permettant d'identifier les nouveau-nés macrosomes à risque était le rapport poids-taille (RPT), tandis que l'IP ne s'est pas révélé significatif (104).

Plus récemment, une étude a montré que des mesures anthropométriques simples telles que le poids et le rapport poids/taille étaient fortement corrélées à l'adiposité néonatale (107). De plus, dans la population de l'étude *Intergrowth-21st Newborn Size Standards* (n = 20,479), (n=20,479), Villar et al. ont montré que le rapport poids-taille à la naissance prédisait le mieux la composition corporelle en raison de sa relation plus forte avec la masse grasse et la masse maigre (108).

Chez les femmes diabétiques, le risque d'hypoglycémie néonatale semble résulter de la combinaison de facteurs de risque tels que le taux de glycémie de la mère (102), le traitement maternel (80,85), et le poids de naissance (109). Cependant, aucune étude n'a évalué le rôle de paramètres anthropométriques néonataux, indépendamment de ces facteurs de risque, dans le risque d'hypoglycémie néonatale chez les nouveau-nés de mères traitées pour un DG. En outre, peu de données ont étudié l'association entre le risque d'hypoglycémie et la faible masse grasse corporelle chez les nouveau-nés de mère diabétique. On manque donc de données solides sur les facteurs de risque d'hypoglycémie néonatale chez les femmes atteintes de DG, basées sur des études prospectives.

L'objectif de cette étude est donc d'étudier l'association entre les mesures anthropométriques néonatales (rapport poids-taille et poids de naissance) et l'hypoglycémie néonatale chez les femmes traitées soit par insuline, soit par glyburide pour un DG.

II. Matériel & méthodes

L'étude a été réalisée à partir des données de l'essai randomisé INDAO détaillé dans le chapitre 1. On rappelle ici que l'hypoglycémie néonatale y a été définie comme une glycémie capillaire inférieure à 36 mg/dl (2 mmol/L) ou inférieure à 45 mg/dl (2,5 mmol/L) associée à des signes cliniques évocateurs d'hypoglycémie après deux heures de vie (Chapitre 1, section II.2.a)

Dans toutes les maternités, les mesures anthropométriques néonatales étaient réalisées à la naissance par des sages-femmes expérimentées. Le poids de naissance était mesuré au gramme près sur une balance électronique et la taille de naissance était mesurée au centimètre près en utilisant une toise standardisée pour la longueur.

Nous avons utilisé les normes de poids à la naissance et du rapport poids-taille (Z-score) selon l'âge gestationnel et le sexe à l'aide des courbes publiées par le *Newborn Cross-Sectional Study of the Intergrowth-21st Project* (81,108). Dans une distribution normale, les valeurs du Z-score correspondant aux 10^{ème} et 90^{ème} percentiles sont respectivement de -1,28 et 1,28.

Statistiques

Les données continues ont été décrites par leurs moyennes \pm l'écart-type et comparées par des tests t de Student, et les données catégorielles ont été décrites par des pourcentages et comparées par des tests de χ^2 . Les caractéristiques maternelles et néonatales ont été comparées entre les nouveau-nés avec et sans hypoglycémie. Les relations entre les mesures anthropométriques -poids de naissance ou rapport poids-taille- et le risque d'hypoglycémie

néonatale ont été modélisées à l'aide d'une régression logistique utilisant des polynômes fractionnaires qui donnent un ajustement optimal des données (110). Cette méthode fournit des courbes et leurs intervalles de confiance à 95% (IC 95%) et permet d'estimer les odds ratios pour le risque d'hypoglycémie (90,111) . Les catégories extrêmes de poids de naissance ou du RPT ajustées en fonction de l'âge gestationnel à la naissance et du sexe ont été définies comme un Z-score <-1,28 ou >1,28 (correspondant au <10^{ème} percentile et au >90^{ème} percentile des mesures néonatales). Ces catégories ont été comparées au Z-score de référence compris entre -1,28 et 1,28 en estimant les odds ratios et leur intervalle de confiance pour l'hypoglycémie néonatale.

L'analyse a été effectuée dans la population des nouveau-nés après avoir exclu les naissances avant 34 SA, car Villar *et al* ont montré que l'augmentation de la masse grasse est linéaire à partir de cet âge gestationnel et jusqu'à la fin de la grossesse (108).

Le logiciel STATA 14.2 (StataCorp, College Station, TX) a été utilisé pour toutes les analyses.

III. Résultats

Pendant la période d'étude, parmi les 890 femmes enceintes incluses et randomisées entre le traitement au glyburide et à l'insuline, 4 femmes ont été exclues car elles ont accouché avant 34 SA. L'étude a donc porté sur 886 femmes et leurs nouveau-nés. Le taux d'hypoglycémie néonatale était de 9,1% (81/886). Les intervalles d'hypoglycémie étaient les suivants : 7,7 % (69/890), 0,8 % (7/890) et 0,7 % (6/890) pour les glycémies comprises entre 24 mg/dl et 36 mg/dl, entre 18 et 24 mg/dl et inférieures à 18 mg/dl respectivement.

Le tableau 3 présente les caractéristiques maternelles en fonction de la survenue ou non d'une hypoglycémie néonatale. Les caractéristiques maternelles et la qualité du contrôle glycémique étaient similaires entre les deux groupes. L'âge gestationnel à l'accouchement était

significativement plus bas pour les nouveau-nés ayant présenté une hypoglycémie néonatale (38,7 SA +/-1,6 versus 39,3 SA +/-1,3, $p=0,001$). De même, l'accouchement prématuré entre 34 et 37 SA était significativement associé à l'hypoglycémie néonatale (12 (14,8%) versus 31 (3,8%) $p<0,001$).

n=886	Absence d'hypoglycémie néonatale	Hypoglycémie néonatale	p
	n=805	n=81	
Caractéristiques générales			
Âge maternel (années)	32,8 +/-5,2	32,9 +/-5,2	0,99
Antécédent de DG	167 (20,7%)	12 (14,8%)	0,25
IMC avant grossesse (kg/m ²)	27,6 +/- 5,7	27,2 +/- 5,5	0,52
Origine géographique			
Europe	333/746 (44,6%)	28/76 (36,8%)	
Afrique du Nord	253/746 (33,9%)	31/76 (40,8%)	0,56
Afrique Sub-Saharienne	120/746 (16,1%)	13/76 (17,1%)	
Asie	40/746 (5,4%)	4/76 (5,3%)	
Caractéristiques du diabète			
Âge gestationnel au diagnostic	26,9 +/-2,2	26,7 +/-1,9	0,41
Contrôle sous-optimal de la glycémie à jeun *	313 (38,9%)	33 (40,7%)	0,74
Contrôle sous-optimal de la glycémie postprandiale *	426 (52,9%)	44 (54,3%)	0,82
Traitement maternel			
Insuline	410 (50,9%)	32 (39,5%)	
Glyburide	319 (39,6%)	44 (54,3%)	0,04
Passage du glyburide à l'insuline	76 (9,5%)	5 (6,2%)	
Caractéristiques obstétricales			
Âge gestationnel à l'accouchement, SA	39,3 +/-1,3	38,7 +/-1,6	0,001
Accouchement entre 34 et 37 SA	31 (3,8%)	12 (14,8%)	<0,001
Voie d'accouchement			
Voie basse	593/805 (73,7%)	51/81 (63,0%)	0,05
Césarienne	212/805 (26,3%)	30/81 (37,0%)	

Tableau 3. Caractéristiques maternelles et obstétricales en fonction de la survenue d'une hypoglycémie néonatale.

Les données sont exprimées en moyenne (+/- écart-type) ou en n (%).

SA : semaines d'aménorrhée ; DG : diabète gestationnel

*Pour chaque femme, le contrôle glycémique global a été quantifié en calculant le pourcentage de valeurs glycémiques dépassant les objectifs (≥ 95 mg/dl pour la glycémie à jeun et ≥ 120 mg/dl pour la glycémie postprandiale de 2 heures) dans tous ses dosages glycémiques, de la randomisation à l'accouchement. Deux catégories de contrôle glycémique ont été définies (et estimées séparément pour les glycémies à jeun et postprandiales) : "contrôle glycémique optimal"

($\leq 20\%$ des valeurs de glycémie dépassant les objectifs) et "contrôle glycémique sous-optimal" (pourcentage $> 20\%$).

Le tableau 4 présente les caractéristiques néonatales en fonction de la survenue de l'hypoglycémie néonatale. Le poids de naissance était significativement plus faible chez les nouveau-nés ayant présenté une hypoglycémie (3238 g +/- 639 versus 3358 g +/- 454, $p=0,03$). Le RPT était également significativement plus faible chez les nouveau-nés ayant présenté une hypoglycémie néonatale : 6,53 kg/m +/-1,06 versus 6,76 kg/m +/-0,75 ($p= 0,01$). La proportion d'enfants ayant un Z-score du RPT $< -1,28$ était significativement plus élevée parmi ceux qui avaient une hypoglycémie : 12,3 % (10) que parmi ceux qui n'en avaient pas : 4,0 % ($p=0,002$) (32). De même, la proportion d'enfants ayant un Z-score du RPT $> 1,28$ était significativement plus élevée chez les enfants hypoglycémiques que chez les enfants non hypoglycémiques : 23,5 % (19) versus 21,0 % (169) ($p=0,002$) (Tableau 4).

n=886	Absence d'hypoglycémie néonatale	Hypoglycémie néonatale	p
	n=805	n=81	
Poids de naissance (grammes)	3358 +/-454	3238 +/-639	0,03
Z-score du poids de naissance			
< -1,28	26 (3,2%)	10 (12,3%)	<0,001
entre -1,28 et +1,28	655 (81,4%)	51 (63,0%)	
> 1,28	124 (15,4%)	20 (24,7%)	
Taille (centimètres)	49,6 +/-2,2	49,3 +/-2,8	0,40
Rapport poids-taille (kg/m)	6,76 +/-0,75	6,53 +/-1,06	0,01
Z-score du rapport poids-taille			
< -1,28	32 (4,0%)	10 (12,3%)	0,002
entre -1,28 et +1,28	604 (75,0%)	52 (64,2%)	
> 1,28	169 (21,0%)	19 (23,5%)	
Détresse respiratoire aiguë	27 (3,4%)	5 (6,2%)	0,20
Hyperbilirubinémie	26 (3,2%)	5 (6,0%)	0,20
Lieu d'hospitalisation			
Suite de couches	742 (92,4%)	54 (66,7%)	<0,001
Unité de soins intensifs	45 (5,6%)	24 (29,6%)	
Réanimation néonatale	16 (2,0%)	3 (3,7%)	
pH artériel au cordon ombilical inférieur à 7,10	25/722 (3,5%)	5/74 (6,8%)	0,19
Lactate artériel au cordon ombilical			
En dessous de 6 mmol/L	403/481 (83,8%)	33/51 (64,7%)	0.001
Entre 6 et 9 mmol/L	65/481 (13,5%)	12/51 (23,5%)	
Supérieur à 9 mmol/L	13/481 (2,7%)	6/51 (11,8%)	

Tableau 4. Caractéristiques néonatales en fonction de la survenue d'une hypoglycémie néonatale.

Les données sont exprimées en moyenne +/- écart-type ou en n (%).

La courbe modélisant la relation entre le Z-score du poids de naissance et le risque d'hypoglycémie néonatale ajustée sur le traitement maternel était une courbe en forme de U et montrait un risque plus élevé pour les nouveau-nés de petit poids pour l'âge gestationnel

ainsi que pour les nouveau-nés macrosomes. Le risque était minimal pour un Z-score du poids de naissance compris entre -1,28 et 1,28 (Figure 9).

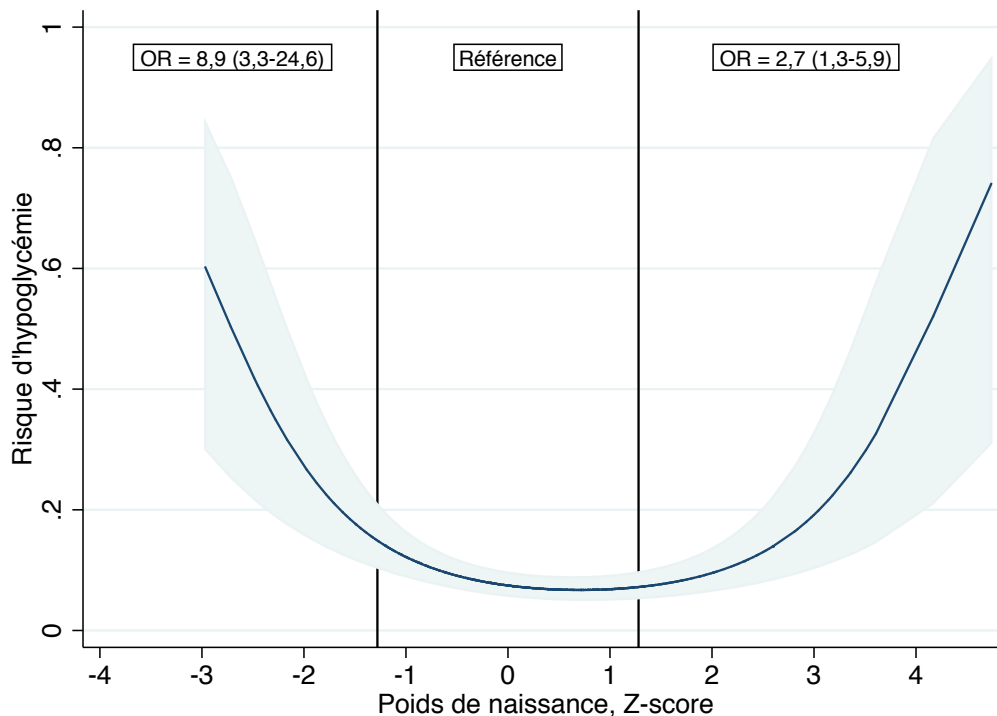


Figure 9. Relation entre le taux d'hypoglycémie et le Z-score du poids de naissance. Modélisation utilisant un polynôme fractionnaire, ajustement pour le traitement maternel.

La courbe modélisant la relation entre le Z-score du RPT et le risque d'hypoglycémie néonatale ajustée pour le traitement maternel a également montré une courbe en forme de U (Figure 10). Les odds ratios ajustés du risque d'hypoglycémie étaient de 9,7 (IC 95 % : 3,5-26,8) et de 2,3 (IC 95 % : 1,1-4,9) pour un Z-score du RPT < -1,28 et un Z-score du RPT > 1,28 respectivement, par rapport à un Z-score du RPT compris entre -1,28 et 1,28 (Figure 10).

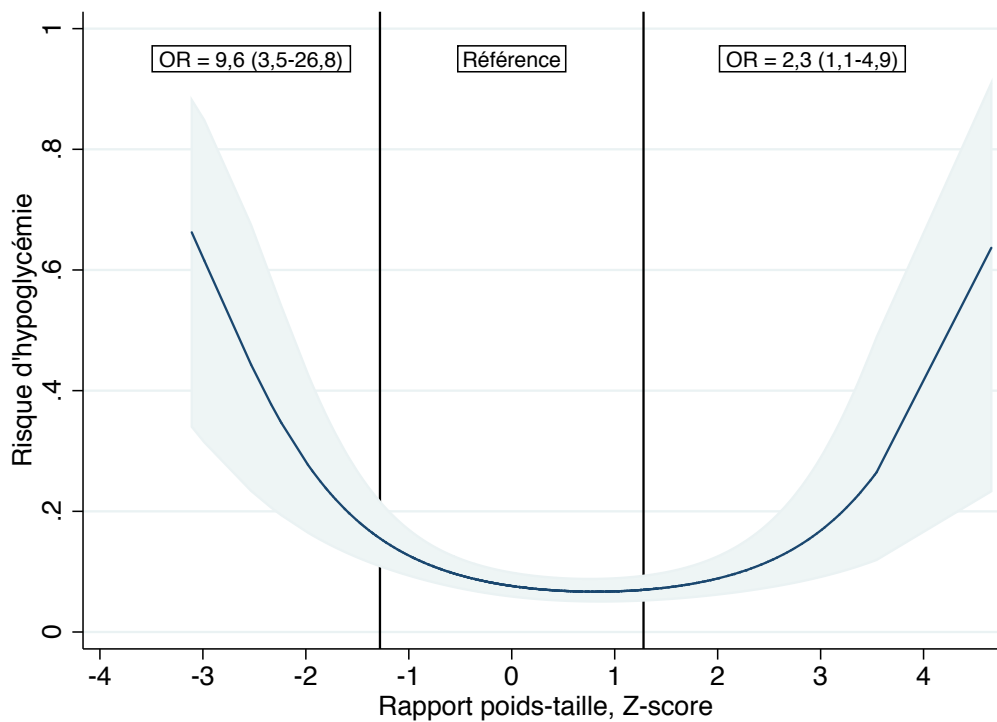


Figure 10. Relation entre le taux d'hypoglycémie et le Z-score du rapport poids-taille. Modélisation utilisant un polynôme fractionnaire, ajustement pour le traitement maternel.

IV. Discussion

Nous avons montré qu'il existait une forte association entre le rapport poids-taille et le risque d'hypoglycémie néonatale chez les nouveau-nés de mères traitées pour un DG. Le risque d'hypoglycémie néonatale était accru à la fois pour un faible Z-score du RPT (inférieur à -1,28, correspondant au 10^{ème} percentile du RPT) et pour un Z-score du RPT élevé (supérieur à 1,28, correspondant au 90^{ème} percentile), indépendamment du traitement maternel. Nous avons également montré cette association entre le risque d'hypoglycémie et le Z-score du poids de naissance.

À ce jour, peu d'études rétrospectives ont évalué la relation entre les mesures anthropométriques et l'hypoglycémie néonatale chez les nouveau-nés de mères traitées pour un DG. Dans une récente étude rétrospective incluant 767 femmes ayant un DG, les auteurs

ont cherché à déterminer les facteurs de risque associés à l'hypoglycémie néonatale (112). Cette étude a révélé qu'un âge gestationnel plus précoce au moment du diagnostic, une glycémie à jeun plus élevée lors de l'épreuve d'HGPO et des antécédents de macrosomie étaient des facteurs anténataux associés de façon indépendante à l'hypoglycémie néonatale. Comme dans notre étude, les auteurs ont constaté que le poids moyen à la naissance était plus faible chez les nouveau-nés ayant une hypoglycémie néonatale que chez ceux qui n'en présentaient pas. Mais les auteurs n'ont pas étudié les indices de masse grasse en tant que facteurs de risque et n'ont pas pris en compte la population des nouveau-nés petits pour l'âge gestationnel (112).

Les études précédentes qui ont évalué l'association entre les mesures anthropométriques et le risque d'hypoglycémie néonatale portaient sur des nouveau-nés de mères non diabétiques (24). Ces études montraient des taux d'hypoglycémie plus élevés chez les nouveau-nés macrosomes asymétriques, définis par une valeur de l'indice anthropométrique supérieure au 90^{ème} percentile (comprenant le RPT, l'IMC et l'IP) (104).

Dans notre étude, nous avons constaté que l'association entre le RPT et le risque d'hypoglycémie néonatale était en accord avec les données de la littérature (83), car le risque d'hypoglycémie néonatale augmentait lorsque le Z-score du RPT était supérieur à 1,28. Mais nous avons également constaté que le risque d'hypoglycémie néonatale augmentait lorsque le Z-score du RPT diminuait en dessous de -1,28, ce qui n'a quasiment pas été étudié auparavant. Ainsi, les nouveau-nés de mères diabétiques présentant un Z-score du RPT extrême (bas ou élevé) constituent une population particulièrement à risque d'hypoglycémie néonatale.

Une étude rétrospective a révélé que le fait d'être petit pour l'âge gestationnel est un facteur de risque important pour la morbi-mortalité périnatale évaluée par un score composite de

complications métaboliques néonatales ou de décès périnatal chez les nouveau-nés de mères ayant un DG traité par régime ou insuline (113). Cette étude a comparé les issues néonatales des nouveau-nés de 3413 femmes selon trois groupes de poids de naissance : petit pour l'âge gestationnel (PAG défini par un poids <10^{ème} percentile selon le sexe et l'âge gestationnel), poids de naissance normal et macrosomes (défini par un poids > 90^{ème} percentile selon le sexe et l'âge gestationnel). Les complications néonatales étaient plus fréquentes dans le groupe PAG (20,1%) que dans les groupes de poids normal à la naissance (9,9%) ou macrosomes (15,2%) (113). Les taux d'hypoglycémie étaient de 7,4 % dans le groupe PAG et de 10,9 % dans le groupe macrosome, versus 4,0 % dans le groupe poids normal ($p < 0,001$) (113).

Les nouveau-nés PAG peuvent être prédisposés à l'hypoglycémie néonatale en raison de réserves de glycogène insuffisantes, d'une source de substrat inadéquate pour la gluconéogenèse mais aussi d'un hyperinsulinisme en réponse à l'hyperglycémie maternelle (114). Un hyperinsulinisme transitoire a également été rapporté dans les cas de retard de croissance intra-utérin, indépendamment du statut glycémique maternel (115). Chez les nouveau-nés PAG, l'insuffisance des réserves de glycogène et de graisse en plus d'un hyperinsulinisme exacerbé peuvent expliquer ce risque accru d'hypoglycémie par rapport aux macrosomes.

Nous avons constaté dans cette étude que les femmes étaient plus nombreuses à être traitées par glyburide dans le groupe des nouveau-nés présentant une hypoglycémie. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'essai INDAO (chapitre 1, section V.3). Une méta-analyse précédente a rapporté un risque accru d'hypoglycémie néonatale chez les nouveau-nés de mères traitées au glyburide par rapport aux mères traitées à l'insuline, mais aucune différence sur le risque d'hypoglycémie néonatale sévère (54).

Il s'agit de la première étude visant à évaluer l'association entre les mesures anthropométriques et l'hypoglycémie néonatale chez les nouveau-nés de femmes ayant un DG et traitées soit par insuline soit par glyburide dans le cadre de données recueillies prospectivement. On souligne que l'essai INDAO avait inclus une population aux caractéristiques maternelles variées, notamment en ce qui concerne les origines géographiques. En effet, peu d'études prospectives ont été menées sur le risque d'hypoglycémie chez les nouveau-nés de mères diabétiques et dans certaines, les populations étaient hétérogènes incluant à la fois des femmes ayant un DG et des femmes ayant un DT2 (83,104,112,116,117). Par conséquent, on ne sait pas encore si le diabète modifie la relation entre les mesures anthropométriques et l'hypoglycémie.

Nous avons pris en compte l'indice du RPT qui est l'indicateur le plus fortement associé à la masse corporelle maigre et à la masse grasse chez les nouveau-nés (107,108). Le RPT est moins sujet aux erreurs de mesure que l'indice pondéral car il ne nécessite pas le cube de la taille à la naissance, qui peut être difficile à mesurer avec précision, mais la taille à la naissance elle-même. Enfin, une force importante de notre étude est que le RPT a été étudié comme une variable continue standardisée (Z-score) contrairement aux études précédentes (83,104), permettant d'étudier les deux extrêmes de la population : les nouveau-nés de petit poids et les nouveau-nés larges pour l'âge gestationnel. La standardisation du poids de naissance et du RPT avec le Z-score a permis de prendre en compte le sexe du nouveau-né et son âge gestationnel à la naissance.

Notre étude présente cependant certaines limites. Il s'agit d'une étude ancillaire de l'essai randomisé INDAO dont l'objectif principal n'était pas d'étudier la relation entre les mesures anthropométriques et l'hypoglycémie (Chapitre 1, section V.2). Par conséquent, certains paramètres sont manquants, notamment les glycémies maternelles à l'accouchement qui

n'ont pas été recueillies et qui étaient disponibles seulement lors des visites de suivi. Deuxièmement, pour mieux comprendre le mécanisme de l'hypoglycémie et la part d'hyperinsulinisme, des dosages supplémentaires pourraient être utiles, comme le dosage du peptide-C au cordon. Étant donné le faible effectif de nouveau-nés hypoglycémiques, bien que nos résultats soient significatifs, la largeur des intervalles de confiance des OR montrent un manque de précision.

L'une des questions qui demeure est le risque de conséquences à long terme de l'hypoglycémie néonatale, en raison de lésions neurologiques potentiellement irréversibles. Le cerveau est en effet dépendant du glucose comme principal substrat du métabolisme énergétique. Dans une étude de cohorte prospective portant sur 404 nouveau-nés considérés comme présentant un risque d'hypoglycémie, l'hypoglycémie néonatale n'était pas associée à un résultat neurologique défavorable à deux ans lorsqu'un traitement était administré pour maintenir une glycémie d'au moins 47 mg par décilitre (118). Plus récemment, une étude randomisée a comparé deux valeurs seuils pour le traitement de l'hypoglycémie néonatale et a rapporté qu'un seuil de glycémie de 36 mg/dl n'était pas inférieur à un seuil de 47 mg/dl pour initier un traitement en ce qui concerne le développement psychomoteur à 18 mois (119). Les données concernant l'effet de l'hypoglycémie néonatale transitoire traitée sur le développement neurologique sont donc rassurantes, mais le dépistage des nouveau-nés à risque issus de mère diabétique reste un problème majeur. Une attention particulière doit être portée sur les nouveau-nés dont le RPT est plus élevé et ceux dont il est plus faible, ces derniers étant plus à risque, du moins sur le plan métabolique.

V. Conclusion

Cette étude a montré que le risque accru d'hypoglycémie néonatale est associé de manière indépendante à des valeurs extrêmes du RPT : qu'il soit élevé mais aussi qu'il soit bas. Une attention particulière doit donc être portée à la naissance aux nouveau-nés de petit poids issus de femmes ayant un DG traité, en raison d'un risque accru par rapport aux nouveau-nés macrosomes.

Chapitre 5 : ROLE DU CYTOCHROME P450 2C9 DANS LE METABOLISME MATERNEL DU GLYBURIDE

Ce chapitre a fait l'objet d'un article publié dans *Clinical Pharmacology and Therapeutics* (120). L'article est en annexe n°3 à la fin de la thèse.

I. Introduction

L'enzyme hépatique cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) est responsable du métabolisme de certains médicaments, tels que les agents hypoglycémiants et les anticoagulants administrés par voie orale ainsi que les AINS (48,49). Le métabolisme hépatique des sulfonylurées hypoglycémiantes est génétiquement déterminé, en raison des polymorphismes génétiques du CYP2C9.

Deux polymorphismes génétiques du CYP2C9 fonctionnels dans la population caucasienne (*CYP2C9**2; rs1799853 [Arg144Cys] et *CYP2C9**3; rs1057910 [Ile359Leu]) ont été associés à une diminution de l'activité enzymatique du CYP2C9, affectant la pharmacocinétique et la pharmacodynamique du glyburide (121–123). Le *CYP2C9**3 est un variant perte de fonction, alors que le *CYP2C9**2 est un variant diminution de fonction dont l'effet en terme d'activité enzymatique est beaucoup plus faible que celui du variant *CYP2C9**3 (124). Environ 10 % de la population européenne est porteuse d'un variant génétique perte de fonction du CYP2C9 (*CYP2C9**3) (125,126); ces patients présentent une diminution de l'élimination du glyburide, ce qui se traduit par des concentrations plasmatiques trois fois plus élevées que dans le reste de la population (84,94,127,128). En ce qui concerne les effets indésirables, le taux d'hypoglycémie associé au traitement par sulfonylurée a été observé dans de petites études

comme étant plus élevé chez les porteurs des allèles variants *CYP2C9**2 et *3 (123,129); toutefois, des études ultérieures n'ont pas réussi à montrer un effet des polymorphismes génétiques du *CYP2C9* sur le risque d'hypoglycémie (130,131).

D'autres études ont montré que les patients porteurs des allèles *CYP2C9**2 à fonction réduite et des allèles perte de fonction*3 du diabète de type 2 (DT2) répondent mieux au traitement par des agents hypoglycémiant à base de sulfonylurées que ceux qui présentent le génotype de type sauvage (130,132–134).

En outre, les transporteurs hépatiques OATP1B1 et OATP1B3 sont impliqués dans l'absorption hépatique des sulfamides hypoglycémiant, et le glyburide est un substrat de l'OATP1B3 (135).

Une étude récente a recherché l'effet des polymorphismes génétiques de l'*OATP1B3* et du *CYP2C9* sur l'absorption hépatique et le métabolisme du glyburide (136). Cette étude a montré que les variants *OATP1B3**4 (699 G>A; rs7311358) et *CYP2C9**2 et *3 avaient une influence significative sur l'absorption hépatique et le métabolisme du glyburide, avec une clairance plus faible que le type sauvage (136). À ce jour, aucune étude n'a évalué les polymorphismes génétiques de l'*OATP1B3* chez les patients diabétiques traités par glyburide.

Un résultat secondaire de l'essai INDAO était un risque accru d'hypoglycémie maternelle dans le groupe des patientes traitées par glyburide (Chapitre 1, section V.3.). Or, si l'on suppose que les femmes porteuses des allèles *CYP2C9**3 et/ou *OATP1B3**4 ont une absorption hépatique et un métabolisme du glyburide inférieurs à ceux des femmes porteuses des allèles de type sauvage, elles devraient présenter un risque d'hypoglycémie plus élevé peu après l'introduction du médicament et leur contrôle glycémique à l'état d'équilibre devrait être obtenu avec une dose de glyburide inférieure.

n

II. Matériel & méthodes

Cette étude de pharmacogénétique, ancillaire de l'essai INDAO, a été menée dans quatre hôpitaux de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris. Toutes les patientes de ces centres randomisées dans le groupe glyburide ont été invitées à y participer et ont signé un consentement. L'étude a consisté à prélever 5 ml de sang de la mère pendant la grossesse (quel que soit le moment). L'ADN a été extrait des leucocytes circulant en périphérie selon les instructions du fabricant, à l'aide du dispositif Qiasymphony (Qiagen, France). Le génotypage a été réalisé par la technique de discrimination allélique *Taqman* en utilisant des kits disponibles dans le commerce, comme publié précédemment (49). Tous les échantillons ont été analysés au laboratoire de pharmacogénétique de l'hôpital de Bicêtre. Le génotypage des polymorphismes génétiques *CYP2C9*2* (rs1799853), *CYP2C9*3* (rs1057910) et *OATP1B3*4* (699 G>A; rs7311358) a été réalisée à l'aide du thermocycleur en temps réel ABI Prism 7900HT Applied Biosystems (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France). Toutes les analyses génotypiques ont été effectuées à deux reprises dans des analyses distinctes pour vérifier la validité de chaque génotypage. La concordance entre les deux analyses indépendantes s'est avérée être de 100%. L'équilibre de Hardy-Weinberg a été testé, en utilisant le test χ^2 pour chaque polymorphe génétique. L'équilibre de Hardy-Weinberg est une théorie de génétique des populations selon laquelle les fréquences alléliques et génotypiques restent constantes d'une génération à l'autre.

L'adaptation des posologies du glyburide ainsi que le suivi des patientes sont décrit dans le chapitre 1 (sections I.1.b et I.1.c) et détaillés dans le paragraphe suivant. On rappelle ici que la dose initiale de glyburide était de 2,5 mg par voie orale une fois par jour et pouvait être augmentée si nécessaire 4 jours plus tard à 2,5 mg deux fois par jour et ensuite par palier de

2,5mg tous les 4 jours, en 2 doses matin et soir, jusqu'à un maximum de 20 mg/jour. En cas d'hypoglycémie symptomatique ou de glycémie < 60 mg/dl, la dose de glyburide pouvait être diminuée ou ramenée à la dose précédente. Si la dose maximale tolérée était atteinte sans atteindre les valeurs de glycémie souhaitées, le traitement était remplacé par l'insuline. Si le traitement était mal toléré en raison de la survenue trop fréquente d'hypoglycémies, le glyburide pouvait également être remplacé par l'insuline. Les visites de suivi étaient prévues aux jours 4, 8, 12, 16, 21 et 28.

La dernière dose de glyburide correspondait à la dernière dose reçue avant l'accouchement. Le traitement a été ajusté en fonction du contrôle glycémique et le risque d'hypoglycémie maternelle. Les données des patientes pour lesquelles le traitement au glyburide a été remplacé par l'insuline ont été analysées jusqu'au moment du remplace par l'insuline.

Analyses statistiques

Les porteurs de l'allèle *CYP2C9**1 ont une fonction normale, tandis que les porteurs de l'allèle *CYP2C9**2 ont un variant à fonction réduite et que les porteurs de l'allèle *CYP2C9**3 ont un variant perte de fonction (125). Concernant l'*OATP1B3*, nous avons considéré que les porteurs d'*OATP1B3**1 ont une fonction normale et que les porteurs d'un ou deux allèles *OATP1B3**4 ont une activité de transport réduite par rapport au type sauvage (137,138). Nous avons donc constitué les trois groupes selon le variant *CYP2C9* : fonction normale, fonction diminuée et perte de fonction, et le variant *OATP1B3* : fonction normale, fonction diminuée du transport. Trois groupes ont été constitués (Tableau 5): le groupe de type sauvage (gris), incluant les patientes présentant le génotype sauvage pour les deux allèles *CYP2C9**1 and *OATP1B3**1 (699G), le groupe intermédiaire (bleu) incluant les patientes porteuses de l'allèle fonction diminuée *CYP2C9**2 (incluant *1/*2 et *2/*2) ou l'allèle variant *OATP1B3**4 (699G>A) à l'état

hétérozygote, et le groupe variant (vert) incluant les patientes porteuses d'un ou deux allèles perte de fonction *CYP2C9**3 (incluant *1/*3, *2/*3 and *3/*3) et/ou les deux allèles du variant *OATP1B3**4 (699G>A) à l'état homozygote.

Génotype <i>CYP2C9</i> \ Génotype <i>OATP1B3</i>	*1/*1	*1/*2	*2/*2	*1/*3	*2/*3	*3/*3	Effectif (Pourcentage)
*1/*1	54	10	1	5	2	0	72 (61,5%)
*1/*4	28	3	0	1	0	0	32 (27,4%)
*4/*4	12	1	0	0	0	0	13 (11,1%)
Nombre (Pourcentage)	94 (80,3%)	14 (12,0%)	1 (0,9%)	6 (5,1%)	2 (1,7%)	0 (0%)	
Fréquence des génotypes en population (125)	62,9%	20,2%	1,6%	12,0%	1,9%	0,6%	

Tableau 5. Distribution et fréquence des polymorphismes génétiques des *CYP2C9* *2, *3 et du transporteur *OATP1B34**

Échantillon (N=117) avec une distribution des groupes selon les génotypes *CYP2C9* et *OATP1B3*. Le gris indique le groupe de type sauvage (n=54), le bleu le groupe intermédiaire (n=42), et le vert le groupe des variant (n=21).

Des comparaisons sur la dose de glyburide et la survenue d'hypoglycémie ont été effectuées entre les trois groupes selon le type de génotype sur toute la durée du traitement et à chaque visite de suivi. Les variables qualitatives ont été comparées par le test χ^2 et les variables quantitatives par une analyse de la variance ANOVA.

L'évolution de la dose de glyburide pendant la grossesse a été analysée à l'aide d'un modèle linéaire mixte. Les données des patientes pour qui le glyburide a été remplacé par l'insuline, ont été exclues au moment où elles ont changé de traitement. Une modélisation utilisant des polynômes fractionnaires a été utilisée pour étudier l'association entre la dose quotidienne

de glyburide et le temps écoulé depuis le début du traitement (110). La dose quotidienne de glyburide a été étudiée car elle reflète l'ajustement du traitement.

Le risque d'hypoglycémie dans les groupes a été étudié par une régression logistique avec ajustement sur la dose de glyburide. Le pourcentage des valeurs de glycémie hors objectif (Chapitre 1, section V.1.c) a été étudié dans les trois groupes de patientes par régression linéaire avec ajustement sur la dose de glyburide. La dernière dose de glyburide dans les groupes a été étudiée par régression linéaire avec ajustement sur l'indice de masse corporelle (IMC) pour tenir compte de la distribution en volume.

III. Résultats

Échantillon

Pendant la période d'étude et dans les 4 centres, 242 patientes ont débuté un traitement par glyburide et étaient éligibles. La moitié d'entre elles (n=121) avait donné leur consentement pour une analyse génétique. Parmi ces 121 patientes, 4 patientes ont été exclues parce que l'ADN ne pouvait pas être amplifié. Par conséquent, 117 patientes étaient incluses pour l'analyse des polymorphismes génétiques *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3* et *OATP1B3*4*.

La distribution et la fréquence du génotypage des allèles *CYP2C9 *2* et *CYP2C9 *3* et du transporteur *OATP1B3* sont décrites dans le tableau 5 dans l'effectif de l'étude et en population générale (125). Dans l'ensemble de l'échantillon, 54 patientes avaient à la fois les génotypes de type sauvage (*CYP2C9*1/*1*) et (*OATP1B3*1/*1*) ; ils constituaient le groupe de type sauvage. Le groupe intermédiaire comprenait 42 patientes présentant un génotypage hétérozygote pour l'*OATP1B3* (*OATP1B3*1/*4*) ou porteuses de l'allèle *CYP2C9*2*. Le groupe variant comprenait 21 patientes porteuses de l'allèle *CYP2C9*3* à l'état hétérozygote (n=8) ou un génotypage homozygote pour l'*OATP1B3* (*OATP1B3*4/*4*) (n=13). Aucune patiente n'était à la fois homozygote (*OATP1B3*4/*4*) et porteuse de l'allèle *CYP2C9*3*. Les polymorphismes *CYP2C9*2* et **3* ont satisfait aux conditions d'équilibre de Hardy-Weinberg dans l'échantillon total des 117 patientes de l'étude (p=0,69 et 0,70), tandis que le polymorphisme génétique *OATP1B3*4* ne satisfaisait pas l'équilibre de Hardy-Weinberg (p=0,01). Cependant, la fréquence des allèles mineurs pour l'*OATP1B3* était de 24,4%, ce qui est proche de 19,5%, fréquence décrite dans ExAc_Aggregated_Populations (139). La répartition de l'origine géographique des patientes est la suivante : Européenne 66,7% (78/117), Africaine 22,2% (26/117), Asiatique 6,0% (7/117), inconnue 5,1% (6/117).

Caractéristiques des patientes et du diabète gestationnel

Les caractéristiques des patients étaient similaires dans les 3 groupes en termes d'âge, d'IMC et d'âge gestationnel au moment du diagnostic du DG (Tableau 6). Le contrôle du DG avant le traitement par glyburide était également similaire. Le nombre moyen de visites de suivi et la durée moyenne du suivi étaient comparables.

Le pourcentage de patientes chez qui le glyburide a été remplacé par l'insuline était beaucoup plus élevé (multiplié par 1,8) dans le groupe génotype variant, bien que cela ne soit pas statistiquement significatif : 23,8% (5/21) contre 13,0% (7/54) dans le groupe génotype sauvage et 19,0% (8/42) dans le groupe intermédiaire (test de tendance - régression logistique, $p=0,24$).

	Groupe sauvage (N=54)	Groupe intermédiaire (N=42)	Groupe variant (N=21)	p
Caractéristiques générales				
Age, années	33,2 (4,7)	32,4 (4,7)	31,6 (4,9)	0,97
Poids, kg	70,9 (13,3)	72,6 (14,2)	74,0 (15,3)	0,74
Âge gestationnel au diagnostic du diabète gestationnel, SA	26,3 (1,5)	27,1 (1,7)	26,2 (1,9)	0,37
IMC avant la grossesse, kg/m ²	30,0 (4,4)	30,9 (5,0)	31,1 (4,9)	0,67
Contrôle glycémique du diabète sous régime avant traitement (à la randomisation)				
Pourcentage des glycémies à jeun hors objectif (≥ 95 mg/dl)	0,38 (0,35)	0,53 (0,34)	0,50 (0,40)	0,13
Pourcentage des glycémies postprandiales hors objectif (≥ 120 mg/dl)	0,26 (0,14)	0,27 (0,24)	0,24 (0,14)	0,78
Contrôle glycémique du diabète sous glyburide				
Pourcentage des glycémies à jeun hors objectif (≥ 95 mg/dl) *	0,13 (0,14)	0,26 (0,23)	0,21 (0,21)	<0,01 ^s
Pourcentage des glycémies postprandiales hors objectif (≥ 120 mg/dl) *	0,24 (0,15)	0,25 (0,21)	0,23 (0,12)	0,48 ^s
Switch vers l'insuline	7/54 (13,0%)	8/42 (19,0%)	5/21 (23,8%)	0,47
Nombre de consultations	4,0 (1,5)	4,3 (2,1)	4,2 (1,5)	0,04
Durée du suivi, jours	36,4 (20,1)	36,0 (21,5)	36,1 (16,7)	0,46
Dose journalière de glyburide, mg	6,3 (3,4)	5,7 (3,1)	4,9 (3,4)	0,81
Dernière dose de glyburide, mg	8,7 (5,7)	5,7 (3,7)	4,7 (3,5)	<0,01

Tableau 6. Caractéristiques générales des patientes et prise en charge du diabète en fonction des génotypes CYP2C9*2 ou *3 et OATP1B3*4

Les trois groupes constitués ont été définis comme suit :

- le groupe de type sauvage : génotype de l'allèle de type sauvage pour les deux CYP2C9*1 et OATP1B3*1 (699G),
- le groupe intermédiaire : porteurs de l'allèle CYP2C9*2 à fonction réduite ou de l'allèle variant hétérozygote OATP1B3*4 (699G>A)
- le groupe des variants : porteurs d'un ou deux allèles CYP2C9*3 sans fonction et/ou de deux allèles variants homozygotes OATP1B3*4 (699G>A)

Les données sont exprimées en moyenne (écart-type) ou effectif (%).

* Pour chaque femme, nous avons calculé le nombre de valeurs de glycémies dans les objectifs dans tous ses prélèvements, de la randomisation à l'accouchement, divisé par le nombre total de ses valeurs de glycémies. La moyenne de ces proportions a été calculée.

§ Régression linéaire avec ajustement sur la dose de glyburide

Risque d'hypoglycémie

Le tableau 7 indique le taux d'hypoglycémie (glycémie inférieure à 60 mg/dl) lors des différentes visites de suivi. Le taux d'hypoglycémie était significativement plus élevé dans le groupe variant au 12^{ème} jour du traitement : 20,0% (4/20) contre 8,1% (3/37) dans le groupe intermédiaire et 4,1% (2/49) dans le groupe de génotype de type sauvage (p test de tendance = 0,03) (Tableau 7). Le risque d'hypoglycémie restait plus élevé dans le groupe variant au cours des deuxième et troisième semaines de traitement (J16 et J21).

	Groupe sauvage (N=54)	Groupe intermédiaire (N=42)	Groupe variant (N=21)	p
Visite de suivi le 4ème jour	10,6% (5/47)	5,1% (2/39)	14,3% (3/21)	0,75*
Visite de suivi le 8ème jour	6,1% (3/49)	10,5% (4/38)	9,5% (2/21)	0,41*
Visite de suivi le 12ème jour	4,1% (2/49)	8,1% (3/37)	20,0% (4/20)	0,03*
Visite de suivi le 16ème jour	6,7% (3/45)	10,8% (4/37)	25,0% (5/20)	0,05*
Visite de suivi le 21ème jour	9,1% (4/44)	14,7% (5/34)	21,0% (4/19)	0,05*
Visite de suivi le 28ème jour	36,4% (12/34)	19,2% (5/26)	38,5% (5/13)	0,61*

Tableau 7. Risque d'hypoglycémie (glycémie < 60 mg/dl) à chaque visite de suivi selon les génotypes CYP2C9*2 ou *3 et OATP1B3*4.

Les trois groupes constitués ont été définis comme suit :

- le groupe sauvage : patientes porteuses du génotype de l'allèle de type sauvage pour CYP2C9*1 et OATP1B3*1 (699G),
- le groupe intermédiaire : patientes porteuses de l'allèle CYP2C9*2 diminution de fonction ou de l'allèle OATP1B3*4 à l'état hétérozygote (699G>A)
- le groupe variant : patientes porteuses d'un ou deux allèles perte de fonction de CYP2C9*3 et/ou de deux allèles variants homozygotes de OATP1B3*4 (699G>A)

Les résultats sont exprimés en %(n/N).

* Régression logistique avec ajustement sur la dose de glyburide

Évolution de la dose de glyburide au cours de la grossesse

Au fil du temps, la dose quotidienne de glyburide pouvait être augmentée par paliers, comme prévu dans le protocole, en fonction du contrôle glycémique. Dans les trois groupes, il y a eu une augmentation progressive de la dose de glyburide en fonction de l'équilibre glycémique.

La dernière dose journalière moyenne de glyburide pendant la grossesse était plus faible pour les patientes du groupe variant : 4,7 mg (ET 3,5) versus 8,7 mg (ET 5,7) dans le groupe sauvage et 5,7 mg (ET 3,7) dans le groupe intermédiaire ($p < 0,01$) (Tableau 6). Les différences sont restées significatives ($p = 0,002$) après ajustement en fonction de l'IMC au moment du diagnostic du DG, pour tenir compte des différences de distribution de volume du glyburide. L'évolution de la dose journalière de glyburide dans les premières semaines du traitement est modélisée selon le génotype dans la figure 11.

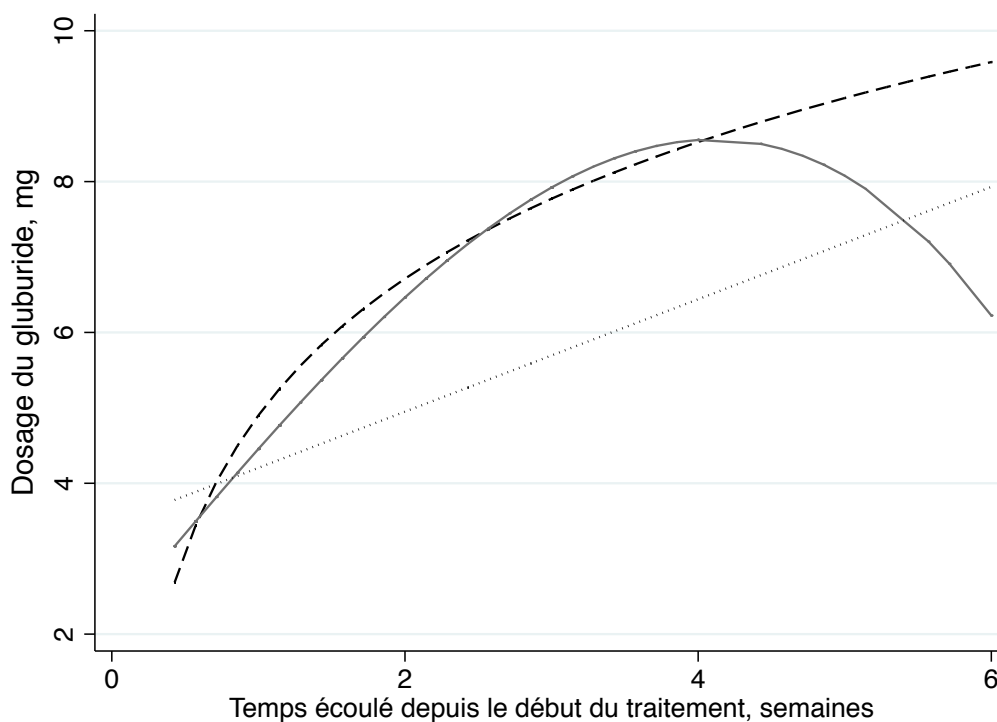


Figure 11. Variation moyenne des doses journalières de glyburide au cours de la grossesse selon les génotypes *CYP2C92 ou *3 et *OATP1B3**4 pour chaque visite de suivi. Modélisation utilisant des polynômes fractionnaires dans un modèle linéaire mixte.**

Ligne en tirets : Génotype sauvage (*CYP2C9**1/*1 et *OATP1B3**1/*1) (N=54) ;
 Ligne continue : Génotype intermédiaire *CYP2C9**1/*2, *2/*2 et *OATP1B3**1/*4 (N=42)
 Ligne en pointillés : Génotype variant *CYP2C9**1/*3, *2/*3, *3/*3 et génotype *OATP1B3**4/*4 (N=21).

Dans le groupe de génotype sauvage, la courbe augmente plus rapidement au début du traitement et atteint des doses plus élevées à la fin du traitement que dans le groupe variant (test d'interaction entre les trois groupes, $p=0,27$). Dans le groupe intermédiaire, la courbe augmente de la même façon que dans le groupe sauvage au début du traitement, mais diminue ensuite pour atteindre une dose plus faible que dans le groupe sauvage.

Le contrôle glycémique à jeun du diabète avec le glyburide est en moyenne meilleur dans le groupe sauvage que dans le groupe intermédiaire et le groupe variant, avec un pourcentage plus faible de valeurs de glycémie hors objectif (Tableau 6). Si l'on considère chaque visite du 4^{ème} au 28^{ème} jour, le contrôle glycémique à jeun était le plus faible dans le groupe variant entre le 8^{ème} et le 16^{ème} jour (Tableau 8). En ce sens, le pourcentage de glycémie à jeun hors objectif était presque trois fois plus élevé dans le groupe variant : 28% contre 11% ($p=0,01$). Pour le contrôle glycémique postprandial, le pourcentage de glycémie hors objectif était comparable entre les deux groupes pour chaque visite de suivi.

	Groupe sauvage (N=54)	Groupe intermédiaire (N=42)	Groupe variant (N=21)	p
Visite de suivi le 4ème jour				
Nombre de patientes	48	39	21	
Pourcentage de glycémie à jeun hors objectif (≥ 95 mg/dl)	19%	34%	28%	0,17 [§]
Pourcentage de glycémie postprandial hors objectif (≥ 120 mg/dl)	21%	24%	17%	0,50 [§]
Visite de suivi le 8ème jour				
Nombre de patientes	49	38	21	
Pourcentage de glycémie à jeun hors objectif (≥ 95 mg/dl)	16%	34%	30%	0,02 [§]
Pourcentage de glycémie postprandial hors objectif (≥ 120 mg/dl)	28%	33%	32%	0,19 [§]
Visite de suivi le 12ème jour				
Nombre de patientes	49	37	20	
Pourcentage de glycémie à jeun hors objectif (≥ 95 mg/dl)	11%	33%	28%	0,001 [§]
Pourcentage de glycémie postprandial hors objectif (≥ 120 mg/dl)	29%	27%	25%	0,97 [§]
Visite de suivi le 16ème jour				
Nombre de patientes	46	37	20	
Pourcentage de glycémie à jeun hors objectif (≥ 95 mg/dl)	14%	34%	23%	0,05 [§]
Pourcentage de glycémie postprandial hors objectif (≥ 120 mg/dl)	24%	29%	23%	0,63 [§]
Visite de suivi le 21ème jour				
Nombre de patientes	44	34	19	
Pourcentage de glycémie à jeun hors objectif (≥ 95 mg/dl)	12%	19%	19%	0,49 [§]
Pourcentage de glycémie postprandial hors objectif (≥ 120 mg/dl)	21%	19%	19%	0,96 [§]
Visite de suivi le 28ème jour				
Nombre de patientes	34	26	13	
Pourcentage de glycémie à jeun hors objectif (≥ 95 mg/dl)	11%	24%	25%	0,19 [§]
Pourcentage de glycémie postprandial hors objectif (≥ 120 mg/dl)	27%	26%	28%	0,46 [§]

Tableau 8. Contrôle du diabète en termes de glycémie à jeun et postprandiale à chaque visite de suivi selon les génotypes *CYP2C92 ou *3 et *OATP1B3**4.**

* Pour chaque femme, nous avons calculé le nombre de valeurs de glycémies dans les limites des objectifs dans tous ses tests de glycémie, de la visite précédente au jour de la visite de suivi, divisé par le nombre total de ses valeurs de glycémie. La moyenne de ces proportions a été calculée.

[§] Régression linéaire avec ajustement sur la dose de glyburide

IV. Discussion

Dans cette étude, nous avons cherché à déterminer l'association entre les épisodes hypoglycémiques maternels et les variants perte de fonction *CYP2C9**3 et *OATP1B3**4 chez les femmes atteintes de DG traitées par glyburide. Nous avons constaté un taux augmenté d'hypoglycémie au début du traitement par glyburide dans le groupe variant comprenant les porteuses de l'allèle *CYP2C9**3 et/ou d'*OATP1B**4 à l'état homozygote, associé à une augmentation moindre de la dose de glyburide et à une dose plus faible de glyburide atteinte en fin de traitement.

Des études antérieures sur la pharmacocinétique des sulfamides hypoglycémiantes selon les polymorphismes génétiques du *CYP2C9* ont montré des taux de glycémies plus élevés avec une augmentation de l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques de glyburide et une diminution de la clairance du glyburide chez des porteurs volontaires sains du génotype du *CYP2C9* (84,94,127,128). Chen *et al* ont également constaté que les porteurs sains des variants *CYP2C9**2 et *3 réagissaient davantage à l'administration de glipizide, avec des taux d'insuline plasmatique plus élevés et une fréquence plus élevée d'hypoglycémie (127). Peu d'études ont évalué l'allèle variant *CYP2C9* chez les patients ayant un diabète de type 2. En 2005, Holstein *et al* ont été les premiers à montrer que les porteurs des allèles variants *CYP2C9**3 ont un risque augmenté d'hypoglycémie sévère associé à la prise orale de glyburide (123). Dans leur étude, ils ont comparé 20 patients ayant un diabète de type 2 ayant des épisodes répétés d'hypoglycémie à 337 patients ayant un diabète de type 2 sans épisodes

d'hypoglycémie sévère. Les génotypes homozygote et hétérozygote *CYP2C9*3* étaient plus fréquents dans le groupe hypoglycémie : 10% vs moins de 2%, respectivement. De plus, le génotype *CYP2C9* peut influencer le risque d'hypoglycémie encore plus chez les patients âgés atteints de diabète de type 2 (131). Ragia *et al* ont également constaté une prévalence plus élevée de patients porteurs de l'allèle *CYP2C9*3* chez les patients atteints de DT2 avec un risque d'hypoglycémie associé aux médicaments (129). Ils ont comparé 92 patients atteints de DT2 recevant un sulfamide hypoglycémiant et signalant une hypoglycémie avec 84 patients atteints de DT2 recevant un sulfamide hypoglycémiant et n'ayant jamais signalé d'hypoglycémie (129).

Le deuxième résultat principal de cette étude est que les porteuses de l'allèle non fonctionnel *CYP2C9*3* et/ou de l'allèle *OATP1B3*4* à l'état homozygote ont eu une augmentation plus faible de la dose de glyburide que les patientes porteuses du génotype de type sauvage pour le *CYP2C9* et l'*OATP1B3* et ont atteint des doses quotidiennes plus faibles de glyburide. Les patientes du groupe intermédiaire ont présenté une augmentation initiale de la dose de glyburide similaire à celle des patientes du groupe de type sauvage, suivie d'une diminution après la quatrième semaine de traitement. Dans une étude de cohorte en population, les porteurs de *CYP2C9*3* pour lesquels un traitement par tolbutamide a été instauré ont reçu des doses de tolbutamide significativement plus faibles que les patients ayant le génotype de type sauvage (140). Comme les changements de dose de glyburide dépendent du contrôle glycémique, on peut supposer que le contrôle glycémique est obtenu avec une dose de glyburide plus faible. Notre étude confirme les études cliniques précédentes qui ont montré un meilleur contrôle de glycémique chez les porteurs du variant perte de fonction du *CYP2C9* (130,132). Une étude a exploré l'influence des polymorphismes génétiques du *CYP2C9* sur les concentrations plasmatiques de glyburide chez 80 patients atteints de DT2 traités par le

glyburide seul ou en combinaison à la metformine (130). Il y avait une association significative entre le statut génotypique du *CYP2C9* et le contrôle du diabète évalué par des valeurs de glycémies à jeun inférieures à 110 mg/dl, avec un meilleur contrôle glycémique chez les patients porteurs du variant *CYP2C9* (130). Cependant, aucune différence significative dans la survenue d'événements indésirables hypoglycémiques n'a été observée entre les groupes génotypiques (130). Dans une autre étude, le variant génétique *CYP2C9*3* était un facteur indépendamment associé à un bon contrôle glycémique chez les patients atteints de DT2 traités par glyburide (132). Les porteurs de l'allèle *CYP2C9*3* sont associés à une amélioration de la réponse aux sulfamides hypoglycémisants et à une diminution du risque d'échec thérapeutique, avec un effet positif sur le contrôle du diabète évalué par des taux d'hémoglobine glyquée plus faibles (133,134). Toutefois, cela a été démontré chez des patients atteints de DT2 traités par un sulfamide hypoglycémiant pendant une période plus longue. Dans le cas du DG, le traitement s'arrête à la fin de la grossesse, c'est-à-dire au moment de l'accouchement entraînant donc une durée du traitement ne dépassant pas 15 semaines.

Il s'agit de la première étude visant à évaluer les facteurs pharmacogénétiques et la réponse après un traitement par glyburide chez les femmes ayant un DG. De plus, il s'agit de la seule étude qui s'est intéressée aux conséquences cliniques des polymorphismes génétiques de l'*OATP1B3* (135,141). Des études *in vitro* ont montré que le variant *OATP1B3* (699G > A) pouvait diminuer significativement la capacité de transport du glyburide et du glipizide (138). Les porteurs des variants *OATP1B3* or *CYP2C9* variants peuvent présenter un surdosage en sulfamides hypoglycémisants, en lien avec une diminution de l'absorption hépatique et du métabolisme, ce qui entraîne une diminution de la clairance et donc une augmentation des concentrations de médicaments. L'impact potentiel pourrait être le risque d'hypoglycémie.

Selon nos conclusions, le génotypage du *CYP2C9* et de *OATP1B3* permettrait de mieux prédire la survenue d'effets indésirables associés à l'utilisation du glyburide ou même d'une moins bonne réponse au traitement pour le génotype variant.

Notre étude a mis en évidence deux polymorphismes différents impliqués dans le métabolisme du glyburide. Le DG est une entité différente du DT2, car moins sévère que le DT2, pour de nombreuses raisons. Il s'agit d'une maladie liée à la grossesse et donc limitée dans le temps qui est moins grave car elle nécessite un traitement à des doses plus faibles que le DT2. Le contrôle du DG est important pour prévenir l'hyperinsulinisme fœtal et pour éviter les complications obstétricales dues au diabète. Ainsi, le traitement est initié en augmentant progressivement les doses en fonction du contrôle glycémique et des événements hypoglycémiques maternels pendant la grossesse.

Ce traitement a actuellement une réelle pertinence dans le DG, par rapport à l'insuline, en raison de sa simplicité d'utilisation et d'une meilleure observance du patient. Cependant, dans l'essai INDAO, les patientes traitées par glyburide ont eu un taux d'hypoglycémie maternelle significativement plus élevé que les patients traités par l'insuline : 28,8% contre 3,5%. Nous avons montré dans cette étude que le taux d'hypoglycémie est augmenté chez les porteurs des variants *CYP2C9* et *OATP1B3*. Le rapport bénéfice/risque du glyburide pourrait être amélioré par un dépistage précoce des porteurs des variants afin de ne traiter avec le glyburide que les patients de génotype sauvage et intermédiaire. Il semble donc que les facteurs génétiques *CYP2C9* et *OATP1B3* jouent un rôle. Ainsi, le génotypage du *CYP2C9* et de *OATP1B3* pour guider de manière préventive la prescription de glyburide pour le DG est réalisable et peut constituer une stratégie potentielle pour réduire le risque d'hypoglycémie grave.

Notre étude est la première à combiner les polymorphismes génétiques du *CYP2C9* et de l'*OATP1B3* impliqués dans le métabolisme et le transport hépatique. Malgré cela, la stratégie thérapeutique sur les données pharmacogénétiques du *CYP2C9* pour prévenir l'hypoglycémie devra être validée davantage dans le cadre d'un essai contrôlé randomisé plus important. Une étude à plus grande échelle est nécessaire chez les femmes ayant un DG traité par le glyburide. Notre étude présente cependant certaines limites. Il s'agissait d'une étude ancillaire de l'essai randomisé de l'INDAO, et cela a eu plusieurs conséquences. Les taux de glycémie n'ont pas été enregistrés, car nous ne disposions que des données permettant de savoir si elles étaient ou non hors objectif. La taille de l'échantillon pour notre étude spécifique était petite, ce qui limite l'interprétation des résultats. En outre, il n'y a pas eu de correction statistique pour les comparaisons multiples en raison des nombreuses visites de suivi. Cette correction n'est pas considérée comme toujours nécessaire dans les études épidémiologiques dans lesquelles une stratégie d'analyse statistique est définie (142), mais elle limite ici une conclusion forte concernant l'efficacité du glyburide dans le groupe de type génotype sauvage.

Enfin, une des questions qui demeure est la place de ces tests pharmacogénétiques dans la pratique courante. La pharmacogénétique est définie par l'étude préalable de la variabilité génétique susceptible de prédire la nature de la réponse aux médicaments. Dans certaines pathologies, il s'agit d'un dosage proposé et réalisé en pratique courante. Ces tests pharmacogénétiques ont été approuvés à visée d'adaptation thérapeutique chez une personne malade, par des recommandations de la HAS sur les Règles de bonnes pratiques en génétique constitutionnelle à des fins médicales (143). Toutefois, actuellement, le glyburide n'est pas recommandé dans le traitement du DG en France. En cas d'évolution de ces recommandations et de possibilité de prescription du glyburide, il y a une place à la discussion

de l'intérêt en pratique clinique de la recherche des variants génétiques du cytochrome P450 C29 pour sélectionner les patientes à risque d'échec thérapeutique ou d'effets indésirables.

V. Conclusion

En conclusion, notre étude confirme les précédentes études décrivant l'association entre les allèles des variants *CYP2C9* et *OATP1B3* et l'hypoglycémie liée à l'utilisation du glyburide. Le dépistage génétique du portage des variants *CYP2C9**3 et *OATP1B3**4 pourrait être utile pour identifier les femmes ayant un DG présentant un risque élevé d'hypoglycémie avec un traitement par glyburide.

Chapitre 6 : SYNTHÈSE ET DISCUSSION GÉNÉRALE

I. Synthèse de l'ensemble des résultats

1. Risque d'hypoglycémie néonatale et passage placentaire du glyburide

Nous avons étudié le passage placentaire du glyburide, ainsi que l'association de la concentration du glyburide au cordon avec le risque d'hypoglycémie néonatale. Il existait un passage placentaire du glyburide avec un rapport de la concentration de glyburide fœtus/mère de 0,62 (IC 95% : 0,50-0,74). La concentration de glyburide dans le sang du cordon ombilical diminuait rapidement et considérablement après la dernière prise maternelle de glyburide. Le risque d'hypoglycémie néonatale augmentait de manière significative avec l'augmentation de la concentration de glyburide dans le cordon ombilical, indépendamment de la macrosomie néonatale. Cependant, aucun nouveau-né n'a présenté de signes cliniques graves d'hypoglycémie nécessitant un passage en réanimation.

Nous pouvons donc conclure que, en raison du passage placentaire du glyburide, son administration dans les quelques heures précédant l'accouchement est associée à un risque d'hypoglycémie néonatale, qui est cependant peu important et réversible. Ce risque peut être limité dans certains cas par l'arrêt du traitement dans un délai suffisant avant l'accouchement (notamment en cas de naissance programmée : césarienne programmée, déclenchement du travail) ou de non prise du traitement dès les premières contractions du travail.

2. Risque d'hypoglycémie néonatale et rapport poids-taille

Nous avons étudié l'association entre le rapport poids-taille et le risque d'hypoglycémie néonatale chez les nouveau-nés de mères traitées pour un DG. Le risque d'hypoglycémie

néonatale était accru à la fois pour les faibles valeurs du RPT (Z-score inférieur à -1,28, correspondant au 10^{ème} percentile du RPT) et pour les valeurs élevées (Z-score supérieur à 1,28, correspondant au 90^{ème} percentile), indépendamment du traitement maternel. Nous avons également montré une association similaire entre le risque d'hypoglycémie et le Z-score du poids de naissance chez ces nouveau-nés. Ainsi, le risque accru d'hypoglycémie néonatale est associé indépendamment du traitement maternel à des valeurs extrêmes du RPT, notamment pour les faibles valeurs, ce qui n'avait pas encore été mis en évidence dans une étude prospective chez les nouveau-nés de mère diabétiques.

Notre travail a donc permis de montrer qu'une attention particulière devait être portée aux nouveau-nés de petit poids dont les mères ont un DG traité, en raison d'un risque accru d'hypoglycémie néonatale par rapport aux nouveau-nés macrosomes.

3. Risque d'hypoglycémie maternelle et variants génétiques du *CYP2C9* et *OATP1B3*

Nous avons cherché à déterminer l'association entre les épisodes hypoglycémiques maternels et les variants perte de fonction *CYP2C9**3 et *OATP1B3**4 chez les femmes atteintes de DG traitées par glyburide. Nous avons constaté un taux augmenté d'hypoglycémie au début du traitement par glyburide dans le groupe variant comprenant les porteuses de l'allèle *CYP2C9**3 et/ou d'*OATP1B3**4 à l'état homozygote, associé à une augmentation moindre de la dose de glyburide et à une dose plus faible de glyburide atteinte en fin de traitement. Cette étude confirme les précédentes études décrivant l'association entre les allèles des variants *CYP2C9* et *OATP1B3* et l'hypoglycémie liée à l'utilisation du glyburide. Le dépistage génétique du portage des variants du *CYP2C9**3 et de l'*OATP1B3**4 pourrait s'avérer utile pour identifier les femmes ayant un DG présentant un risque élevé d'hypoglycémie avec un traitement par glyburide.

II. Forces et limites de la thèse

Nous reprendrons dans cette partie, les éléments constituant les forces et limites de l'ensemble de cette thèse. Les forces et limites spécifiques à chaque étude, qui ont déjà été développées, ne seront pas reprises dans cette section.

1. Forces

Les données issues de l'essai randomisé INDAO sont robustes portant sur une population de 914 femmes ayant un diabète gestationnel avec un recueil prospectif des données. Les études ancillaires portant sur le passage placentaire et les polymorphismes génétiques du *CYP2C9* et de *OATP1B3* étaient prévues initialement dans le protocole INDAO.

Nos résultats permettent de mieux comprendre le mécanisme d'action du glyburide chez la mère et le fœtus, et de mieux en appréhender les complications. Associés à la littérature existante, nos résultats permettent de mieux préciser les risques d'effets indésirables du glyburide chez la mère et le fœtus afin de pouvoir en limiter les effets.

2. Limites

L'étude du passage placentaire et l'évaluation des polymorphismes génétiques étaient deux études ancillaires de l'essai randomisé de l'INDAO. Cela a été une force comme souligné plus haut, cependant ces études ne répondaient pas aux objectifs principaux de l'essai. Lors de la réalisation pratique de l'essai et son suivi, la priorité a été donnée à l'objectif principal ce qui a bien sûr eu des conséquences sur les études ancillaires. Les effectifs visés pour ces études

n'ont pas toujours été atteints (cela est particulièrement vrai pour l'étude sur les polymorphismes génétiques du *CYP2C9* et de *OATP1B3*) et des variables pertinentes n'ont pas été relevées limitant l'interprétation des résultats. Plusieurs raisons peuvent expliquer la limitation des effectifs. De façon générale, pendant les 4 années de recrutement des femmes, l'attention était centrée sur les effectifs à atteindre pour l'objectif principal. De façon plus spécifique aux études ancillaires, elles impliquaient la réalisation d'un ou plusieurs prélèvement(s) biologique(s) supplémentaire(s) (Chapitres 3 et 5). Dans l'étude concernant le passage placentaire du glyburide, la réalisation du prélèvement devait être réalisée immédiatement après l'accouchement simultanément à la mère et sur le sang du cordon. Ensuite, ces études avaient nécessité la signature d'un consentement supplémentaire, différent du consentement pour la participation à l'essai INDAO. De plus, ces études ancillaires n'avaient pas été proposées dans tous les centres participant à l'essai, notamment en raison des conditions d'acheminement des prélèvements vers le laboratoire spécialisé.

En ce qui concerne le manque de certaines variables complémentaires, leur recueil n'avait pas été prévu dans le protocole pour ne pas alourdir la réalisation de l'essai, ce qui aurait pu pénaliser la réalisation de l'objectif principal. Or, ces données auraient été intéressantes pour les analyses secondaires. Dans l'étude sur le passage placentaire du glyburide par exemple, les niveaux de la glycémie maternelle au moment de la naissance, le dosage du Peptide-C au cordon auraient été utiles pour l'analyse et l'interprétation des résultats afin d'étudier la part d'un hyperinsulinisme fœtal.

Dans l'étude sur les polymorphismes génétiques du *CYP2C9* et de *OATP1B3*, il aurait été intéressant d'analyser les taux de glycémie maternelle pour évaluer plus précisément le degré de l'équilibre glycémique. Or, ils n'étaient pas été enregistrés dans le détail, car la seule donnée nécessaire pour l'essai était de savoir si les glycémies étaient ou non hors objectif. Il

aurait également été intéressant d'avoir des données plus précises sur le nombre d'hypoglycémies.

III. Implications cliniques: place actuelle du glyburide dans le traitement du DG

Le glyburide pourrait être proposé en première intention en raison de sa facilité d'utilisation et de conservation. En effet ce traitement administré per os en une ou deux prises par jour demande une éducation des patientes moins importante que l'insulinothérapie en injections sous cutanées avec potentiellement une meilleure observance et une diminution du nombre de consultations. De plus contrairement à l'insuline, le glyburide ne nécessite pas de conservation au froid et peut être conservé à température ambiante. La littérature existante ainsi que les données apportées par les travaux de cette thèse permettent de mieux définir la place potentielle du glyburide dans le traitement du DG avec les bénéfices et les risques pour la mère et l'enfant à court terme.

1. Contrôle glycémique et hypoglycémie maternelle

Les essais randomisés et les méta-analyses comparant le glyburide à l'insuline s'accordent à dire que le glyburide et l'insuline sont aussi efficaces l'un que l'autre pour normaliser la glycémie maternelle chez les femmes ayant un DG (45,54,55,77,79). Nous avons mené une analyse secondaire à partir des données de l'essai INDAO, dont l'objectif était de décrire et de quantifier la qualité du contrôle glycémique et le risque d'hypoglycémie maternelle chez les femmes atteintes de DG traitées par glyburide en comparaison à l'insuline (82). Cette étude montrait que le contrôle glycémique était optimal pour les femmes traitées par glyburide (82). En effet, plus de 50 % des femmes avaient un contrôle glycémique optimal avec le glyburide, ce qui signifiait que moins de 20% de leurs valeurs de glycémie dépassaient les valeurs cibles.

Ces résultats étaient comparables à ceux obtenus avec l'insuline. Un résultat très intéressant de cette étude était la nécessité de tenir compte d'une courbe d'apprentissage de l'utilisation du glyburide afin d'obtenir une meilleure tolérance maternelle avec une diminution des épisodes d'hypoglycémies maternelles. En effet, à la fin de la dernière année d'étude, les taux d'hypoglycémie maternelle sévère étaient proches de zéro dans les groupes insuline et glyburide. Le protocole préconisait initialement une prise de glyburide le matin à jeun comme décrit par Langer *et al* (39), mais a nécessité une adaptation en fonction des hyperglycémies des patientes. Ainsi, le glyburide était prescrit le soir au coucher pour contrôler l'hyperglycémie survenant le matin à jeun. De même, la collation systématique le matin et l'après-midi permettaient de diminuer le risque d'hypoglycémie. Ces adaptations au fil du temps ont permis de diminuer le risque d'hypoglycémie maternelle.

C'est ainsi que nous avons pu montrer dans cette même étude (82) que la conjonction de l'adaptation de l'horaire de la prise de glyburide en fonction des hyperglycémies associée à des collations systématiques avait permis lors de la dernière année de l'essai d'obtenir des taux d'hypoglycémies avec le glyburide comparables à ceux de l'insuline.

Le glyburide est donc un traitement efficace pour atteindre un contrôle glycémique optimal pendant la grossesse chez les femmes atteintes de DG. Cependant, l'utilisation du glyburide nécessite une bonne compréhension de son mécanisme d'action et une période d'apprentissage est nécessaire pour réduire le taux d'hypoglycémie maternelle. L'échec du glyburide est difficile à prévoir. Cependant, comme nous l'avons montré dans cette étude, il peut être détecté précocement au cours des premières semaines de traitement, auquel cas le passage à l'insuline améliore rapidement le contrôle glycémique (82). Ces résultats permettent aux médecins prescripteurs d'améliorer la gestion du DG.

2. Hypoglycémie néonatale

a. Interprétation des conclusions de INDAO

Le résultat principal de l'essai INDAO était une fréquence plus élevée du critère composite de jugement principal dans le groupe glyburide par rapport au groupe insuline : 27,6% versus 23,4 % (différence=4,2 % ; IC unilatéral 97,5 % : $-\infty$ à 10,5 % ; $p = 0,19$).

L'interprétation de ce résultat n'est pas évidente. L'hypothèse nulle testée est que le glyburide était non inférieur à l'insuline. Le seuil de non-infériorité fixé pour calculer le nombre de sujets nécessaire était une différence de 7%, ce qui a conduit à un test non significatif ($p=0,19$). La conclusion a donc été qu' « on ne montrait pas que le glyburide était non inférieur à l'insuline », phrase difficile à comprendre en raison de la double négation, mais qui ne veut pas dire que le glyburide est inférieur à l'insuline. Il nous a donc paru préférable de conclure un tel essai de non-infériorité en donnant l'intervalle de confiance de la différence entre les deux traitements, comme plusieurs auteurs l'ont suggéré (144,145). Nous sommes arrivés ainsi à la conclusion que la différence d'efficacité entre le glyburide et l'insuline ne dépassait pas 10,5% qui était la borne supérieure de l'intervalle de confiance.

Dans l'essai INDAO, l'écart entre le glyburide et l'insuline pour le critère composite de jugement principal était principalement dû au taux plus élevé d'hypoglycémie néonatale dans le groupe glyburide. Or, l'hypoglycémie néonatale était transitoire et réversible, sans conséquence à long terme sur l'enfant d'après les données de la littérature (119). De plus, les données concernant l'effet de l'hypoglycémie néonatale transitoire traitée sur le développement neurologique sont rassurantes, le dépistage des nouveau-nés à risque issus de mère diabétique restant un problème majeur.

Ainsi, les résultats de l'essai INDAO ont suggéré que l'augmentation des complications néonatales dues au glyburide pourrait ne pas dépasser 10,5 % par rapport à l'insuline. Ce résultat doit être mis en balance avec le fait qu'il s'agit de complications transitoires et avec la facilité d'utilisation du glyburide par rapport à l'insuline pouvant permettre une meilleure observance des patientes. Il ouvre donc à la discussion sur l'interprétation des conclusions d'un essai de non-infériorité. Notamment, cela soulève la difficulté d'avoir fixé *a priori* la borne de l'intervalle de confiance pour conclure à une non-infériorité (7%).

b. Limitation du passage placentaire du glyburide

Nos travaux ont permis de mettre en évidence l'existence d'un passage placentaire du glyburide avec un risque d'hypoglycémie néonatale directement corrélé à la concentration de glyburide au cordon à la naissance. Nous avons également montré que cette concentration devenait quasiment nulle 24 heures après la dernière prise maternelle de glyburide. Cela laisse donc la possibilité d'un arrêt du traitement maternel en cas de naissance programmée (déclenchement ou césarienne programmée) ou encore en cas de début de travail dès l'apparition des premières contractions utérines. Pour ces nouveau-nés, il paraît également justifié de réaliser de façon systématique une glycémie dans les premières heures de vie, afin de traiter l'hypoglycémie le cas échéant.

c. Dépistage ciblé des nouveau-nés à risque d'hypoglycémie néonatale

La prévention du risque d'hypoglycémie néonatale passe également par une amélioration du dépistage des nouveau-nés à risque d'hypoglycémie néonatale. Nous avons montré qu'il existait une forte association entre le rapport poids-taille et le risque d'hypoglycémie

néonatale chez les nouveau-nés de mères traitées pour un DG. En effet, le risque d'hypoglycémie néonatale était accru à la fois pour un faible RPT (inférieur au 10^{ème} percentile du RPT) et pour un RPT élevé (supérieur 90^{ème} percentile), indépendamment du traitement maternel, de l'âge gestationnel de naissance et du sexe néonatal.

Or, nous avons longtemps pensé que les nouveau-nés de mère diabétiques macrosomes étaient les nouveau-nés les plus à risque d'hypoglycémie néonatale. Ainsi, la population des nouveau-nés dont le RPT est plus faible nécessite d'être particulièrement surveillé, ces derniers étant plus à risque d'hypoglycémie néonatale. Ce dépistage de l'hypoglycémie dans la période néonatale immédiate permet de prendre en charge rapidement et précocement les hypoglycémies avérées.

3. Sélection des patientes éligibles au glyburide

Ainsi les meilleures candidates au traitement par glyburide seraient les patientes qui, après information, seraient aptes à comprendre les enjeux du traitement et son utilisation. L'utilisation du glyburide passe par l'éducation thérapeutique des patientes pour la gestion des doses de glyburide selon le profil glycémique dans la journée de la même façon que l'insuline. Ainsi, la répartition du traitement serait à adapter aux moments de la journée où les glycémies sont les plus élevées. Dans l'essai princeps de Langer *et al*, les auteurs préconisaient une prise de glyburide le matin à jeun selon le protocole de prescription du glyburide (39). Bien que ces choix de prescription étaient arbitraires et sans justification, il a été repris dans toutes les études qui ont suivi.

La sélection des patientes aura également pour objectif de repérer les patientes à risque d'échec et potentiellement de switch à l'insuline, puisqu'un des risques liés au glyburide est

l'échec du traitement, défini par une non atteinte des objectifs glycémiques à la dose maximale entraînant un changement de traitement par l'Insuline (switch). Cette situation surviendrait chez 4 à 20% des femmes (39,54,58,80). L'enjeu serait d'identifier ces femmes et ainsi de sélectionner les patientes éligibles à un traitement par glyburide en tenant compte des facteurs d'échec du traitement. Langer *et al* ont suggéré que l'échec du traitement au glyburide était lié à la gravité du DG (60). Ce qui a été étayé par une étude prospective publiée par Chmait *et al*, dont l'objectif était d'étudier les facteurs de succès du traitement par glyburide (58). Les facteurs de succès du traitement par glyburide étaient un âge gestationnel à l'initiation du traitement (échec du régime) tardif après 30 SA , et une glycémie à jeun ou postprandiale inférieures à 110 mg/dl et 140 mg/dl sous régime respectivement (58). Ces paramètres semblent important à prendre en compte pour sélectionner les patientes éligibles à un succès du traitement par glyburide. Cependant, contrairement à la littérature (58), l'étude publiée par Affres *et al* à partir des données de INDAO retrouvait peu de facteurs prédictifs de l'échec du traitement par glyburide (âge maternel et contrôle glycémique sous-optimal avant le traitement) (82).

Enfin, un autre risque lié au traitement par glyburide serait l'hypoglycémie maternelle, qui surviendrait quatre fois plus que chez les femmes traitées par l'insuline. Nous avons montré que le risque d'hypoglycémie pouvait être augmenté chez les patientes porteuses des variants des polymorphismes génétiques du *CYP2C9* et de *OATP1B3*. Ainsi, le choix des patientes éligibles pourrait également être orienté par l'absence de portage des variants des polymorphismes génétiques du *CYP2C9* et de *OATP1B3*. Une des perspectives de recherche serait l'étude à plus grande échelle de ces polymorphismes génétiques chez des femmes ayant un DG traité par glyburide.

IV. Perspectives de recherche

Le glyburide reste donc une option thérapeutique séduisante qui pourrait être évaluée dans le DG modéré en tenant compte des facteurs d'échec. Les travaux issus de cette thèse nous ont permis d'ouvrir des perspectives de recherche pour l'utilisation du glyburide chez la femme enceinte.

Nous avons montré l'existence d'une association entre les épisodes hypoglycémiques maternels et les variants perte de fonction *CYP2C9**3 et *OATP1B3**4 chez les femmes atteintes de DG traitées par glyburide, avec un taux augmenté d'hypoglycémie au début du traitement par glyburide chez les porteuses de l'allèle *CYP2C9**3 et/ou d'*OATP1B**4 à l'état homozygote. Il semble nécessaire de réaliser une étude à grande échelle prospective observationnelle portant sur les femmes enceintes ayant un DG traité par glyburide afin d'étudier les polymorphismes génétiques du *CYP2C9*.

D'autre part, il n'existe actuellement pas de données sur le suivi à moyen et long terme des enfants nés de mères diabétiques traitées par glyburide. A l'inverse, il existe des données rassurantes sur le suivi des enfants nés de mères traitées par metformine (146,147). Le suivi de ces enfants allait jusqu'à l'âge de 9 ans (146). Il n'y avait pas de différences entre les groupes de traitement en ce qui concerne la composition corporelle en graisses ou les paramètres métaboliques. Des études sur le suivi à moyen et long terme des enfants nés de mères traitées par glyburide sont nécessaires, notamment sur l'axe endocrinien.

Conclusion

Ces travaux apportent de nouvelles connaissances concernant le mécanisme d'action du glyburide chez les femmes enceintes, permettant une meilleure utilisation dans le traitement du DG et une approche plus personnalisée. Sa facilité d'utilisation par rapport à l'insuline peut permettre une meilleure observance des patientes, après information sur la balance bénéfices-risques de ce traitement.

Il demeure cependant la question pour l'enfant des conséquences potentielles à long terme de l'exposition prolongée *in utero* au glyburide.

Bibliographie

1. Organisation mondiale de la Santé. Rapport Mondial sur le Diabète [Internet]. Organisation mondiale de la Santé. 2016. Available from: <https://www.who.int/diabetes/global-report/fr/>
2. Szmuilowicz ED, Josefson JL, Metzger BE. Gestational Diabetes Mellitus. Vol. 48, Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. W.B. Saunders; 2019. p. 479–93.
3. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 190: Gestational Diabetes Mellitus. *Obstet Gynecol*. 2018 Feb 1;131(2):e49–64.
4. Chu SY, Abe K, Hall LR, Kim SY, Njoroge T, Qin C. Gestational diabetes mellitus: All Asians are not alike. *Prev Med (Baltim)*. 2009 Aug;49(2–3):265–8.
5. Weijers RNM, Bekedam DJ, Oosting H. The prevalence of type 2 diabetes and gestational diabetes mellitus in an inner city multi-ethnic population. *Eur J Epidemiol*. 1998;14(7):693–9.
6. Coulm B, Bonnet C, Blondel B. Enquête nationale périnatale 2016. 2016.
7. Senat M V., Deruelle P. Gestational diabetes mellitus. *Gynecol Obstet Fertil*. 2016 Apr 1;44(4):244–7.
8. Wery E, Vambergue A, Le Goueff F, Vincent D, Deruelle P. Impact des nouveaux critères de dépistage sur la prévalence du diabète gestationnel. *J Gynecol Obstet Biol la Reprod*. 2014;43(4):307–13.
9. Metzger BE. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. Vol. 33, *Diabetes Care*. *Diabetes Care*; 2010. p. 676–82.
10. O’Sullivan JB, Mahan CM. Criteria for the oral glucose tolerance test in pregnancy. *Diabetes*. 1964 May;13:278–85.
11. Moyer VA, U.S. Preventive Services Task Force. Screening for Gestational Diabetes Mellitus: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann Intern Med*. 2014 Mar 18;160(6):414–20.
12. Durnwald C. Gestational diabetes: Linking epidemiology, excessive gestational weight gain, adverse pregnancy outcomes, and future metabolic syndrome. *Semin Perinatol*. 2015 Jun;39(4):254–8.
13. Mack LR, Tomich PG. Gestational Diabetes. *Obstet Gynecol Clin North Am*.

- 2017;44(2):207–17.
14. Farrar D. Hyperglycemia in pregnancy: prevalence, impact, and management challenges. *Int J Womens Health*. 2016;8:519–27.
 15. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams D. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2009;373(9677):1773–9.
 16. Feig DS, Zinman B, Wang X, Hux JE. Risk of development of diabetes mellitus after diagnosis of gestational diabetes. *CMAJ*. 2008 Jul 29;179(3):229–34.
 17. Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998;15(7):539–53.
 18. Cleeman JI. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *J Am Med Assoc*. 2001 May 16;285(19):2486–97.
 19. Xu Y, Shen S, Sun L, Yang H, Jin B, Cao X. Metabolic Syndrome Risk after Gestational Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. Pasquali R, editor. *PLoS One*. 2014 Jan 31;9(1):e87863.
 20. Retnakaran R. Hyperglycemia in pregnancy and its implications for a woman’s future risk of cardiovascular disease. Vol. 145, *Diabetes Research and Clinical Practice*. Elsevier Ireland Ltd; 2018. p. 193–9.
 21. Mitanchez D. Foetal and neonatal complications in gestational diabetes: perinatal mortality, congenital malformations, macrosomia, shoulder dystocia, birth injuries, neonatal complications. Vol. 36, *Diabetes & metabolism*. *Diabetes Metab*; 2010. p. 617–27.
 22. Pedersen J. Weight and length at birth of infants of diabetic mothers. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1954;16(4):330–42.
 23. Freinkel N. Of pregnancy and progeny. *Diabetes*. 1980;29(12):1023–35.
 24. Metzger BE, Persson B, Lowe LP, Dyer AR, Cruickshank JK, Deerochanawong C, et al. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Study: Neonatal Glycemia. *Pediatrics*. 2010 Dec 1;126(6):e1545–52.
 25. Östlund I, Hanson U, Björklund A, Hjertberg R, Eva N, Nordlander E, et al. Maternal and fetal outcomes if gestational impaired glucose tolerance is not treated. *Diabetes Care*.

- 2003 Jul 1;26(7):2107–11.
26. Kc K, Shakya S, Zhang H. Gestational diabetes mellitus and macrosomia: A literature review. Vol. 66, *Annals of Nutrition and Metabolism*. S. Karger AG; 2015. p. 14–20.
 27. Zhang X, Decker A, Platt RW, Kramer MS. How big is too big? The perinatal consequences of fetal macrosomia. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198(5):517.e1-517.e6.
 28. Gherman RB, Chauhan S, Ouzounian JG, Lerner H, Gonik B, Goodwin TM. Shoulder dystocia: The unpreventable obstetric emergency with empiric management guidelines. Vol. 195, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. *Am J Obstet Gynecol*; 2006. p. 657–72.
 29. Esakoff TF, Cheng YW, Sparks TN, Caughey AB. The association between birthweight 4000 g or greater and perinatal outcomes in patients with and without gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;200(6):672.e1-672.e4.
 30. Dudley DJ. Diabetic-Associated Stillbirth: Incidence, Pathophysiology, and Prevention. Vol. 34, *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. *Obstet Gynecol Clin North Am*; 2007. p. 293–307.
 31. Salvesen DR, Michael Brudenell J, Snijders RJM, Ireland RM, Nicolaides KH. Fetal plasma erythropoietin in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;168(1):88–94.
 32. Horvath K, Koch K, Jeitler K, Matyas E, Bender R, Bastian H, et al. Effects of treatment in women with gestational diabetes mellitus: Systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2010 Apr 10;340(7750):796.
 33. Donovan LE, Cundy T. Does exposure to hyperglycaemia in utero increase the risk of obesity and diabetes in the offspring? A critical reappraisal. Vol. 32, *Diabetic Medicine*. Blackwell Publishing Ltd; 2015. p. 295–304.
 34. Tam WH, Ma RCW, Ozaki R, Li AM, Chan MHM, Yuen LY, et al. In utero exposure to maternal hyperglycemia increases childhood cardiometabolic risk in offspring. *Diabetes Care*. 2017 May 1;40(5):679–86.
 35. Deierlein AL, Siega-Riz AM, Chantala K, Herring AH. The association between maternal glucose concentration and child BMI at age 3 years. *Diabetes Care*. 2011 Feb;34(2):480–4.
 36. Landon MB, Spong CY, Thom E, Carpenter MW, Ramin SM, Casey B, et al. A Multicenter, Randomized Trial of Treatment for Mild Gestational Diabetes. *N Engl J Med*. 2009

- Oct;361(14):1339–48.
37. Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, McPhee AJ, Jeffries WS, Robinson JS, et al. Effect of Treatment of Gestational Diabetes Mellitus on Pregnancy Outcomes. *N Engl J Med*. 2005 Jun 16;352(24):2477–86.
 38. Langer O, Yogev Y, Most O, Xenakis EMJ. Gestational diabetes: The consequences of not treating. In: *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. Mosby Inc.; 2005. p. 989–97.
 39. Langer O, Conway DL, Berkus MD, Xenakis EM-J, Gonzales O. A Comparison of Glyburide and Insulin in Women with Gestational Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 2000 Oct 19;343(16):1134–8.
 40. Landon MB, Rice MM, Varner MW, Casey BM, Reddy UM, Wapner RJ, et al. Mild gestational diabetes mellitus and long-term child health. *Diabetes Care*. 2015 Mar 1;38(3):445–52.
 41. Hillier TA, Pedula KL, Schmidt MM, Mullen JA, Charles MA, Pettitt DJ. Childhood obesity and metabolic imprinting: The ongoing effects of maternal hyperglycemia. *Diabetes Care*. 2007 Sep;30(9):2287–92.
 42. Gillman MW, Oakey H, Baghurst PA, Volkmer RE, Robinson JS, Crowther CA. Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on obesity in the next generation. *Diabetes Care*. 2010 May;33(5):964–8.
 43. Christos C, Paolo C, Alexandros S. Gestational Diabetes Mellitus pharmacological prevention and treatment. *Curr Pharm Des [Internet]*. 2021 Jan 26;27.
 44. Rowan JA, Hague WM, Gao W, Battin MR, Moore MP. Metformin versus Insulin for the Treatment of Gestational Diabetes. *N Engl J Med*. 2008 May 8;358(19):2003–15.
 45. Balsells M, Garcia-Patterson A, Sola I, Roque M, Gich I, Corcoy R. Glibenclamide, metformin, and insulin for the treatment of gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2015 Jan 21;350(jan21 14):h102–h102.
 46. Bergel R, Hadar E, Toledano Y, Hod M. Pharmacological Management of Gestational Diabetes Mellitus. Vol. 16, *Current Diabetes Reports*. Current Medicine Group LLC 1; 2016.
 47. Hebert M, Ma X, Naraharisetti S, Krudys K, Umans J, Hankins G, et al. Are We Optimizing Gestational Diabetes Treatment With Glyburide? The Pharmacologic Basis for Better Clinical Practice. *Clin Pharmacol Ther*. 2009 Jun 18;85(6):607–14.

48. Kirchheiner J, Brockmöller J. Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. Vol. 77, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. Clin Pharmacol Ther; 2005. p. 1–16.
49. Carbonell N, Verstuyft C, Massard J, Letierce A, Cellier C, Deforges L, et al. CYP2C9*3 Loss-of-Function Allele Is Associated With Acute Upper Gastrointestinal Bleeding Related to the Use of NSAIDs Other Than Aspirin. *Clin Pharmacol Ther*. 2010 Jun;87(6):693–8.
50. Caritis SN, Hebert MF. A pharmacologic approach to the use of glyburide in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2013 Jun;121(6):1309–12.
51. Schwartz RA, Rosenn B, Aleksa K, Koren G. Glyburide transport across the human placenta. *Obstet Gynecol*. 2015 Mar;125(3):583–8.
52. Castillo WC, Boggess K, Stürmer T, Brookhart MA, Benjamin DK, Funk MJ. Trends in Glyburide Compared With Insulin Use for Gestational Diabetes Treatment in the United States, 2000-2011. *Obs Gynecol*. 2014;123(6):1177–84.
53. Collège national des gynécologues et obstétriciens français. [Gestational diabetes]. *J Gynecol Obstet Biol la Reprod*. 2010;39(8 Suppl 2).
54. Song R, Chen L, Chen Y, Si X, Liu Y, Liu Y, et al. Comparison of glyburide and insulin in the management of gestational diabetes: A meta-analysis. Luo Z-C, editor. *PLoS One*. 2017 Aug 3;12(8):e0182488.
55. Zeng Y, Li M, Chen Y, Jiang L, Wang S, Mo X, et al. The use of glyburide in the management of gestational diabetes mellitus: a meta-analysis. *Adv Med Sci*. 2014 Mar;59(1):95–101.
56. Castillo WC, Boggess K, Stürmer T, Brookhart MA, Benjamin DK, Funk MJ. Association of adverse pregnancy outcomes with glyburide vs insulin in women with gestational diabetes. *JAMA Pediatr*. 2015 May 1;169(5):452–8.
57. Cheng YW, Chung JH, Block-Kurbisch I, Inturrisi M, Caughey AB. Treatment of gestational diabetes mellitus: glyburide compared to subcutaneous insulin therapy and associated perinatal outcomes. *J Matern Neonatal Med*. 2012 Apr;25(4):379–84.
58. Chmait R, Dinise T, Moore T. Prospective observational study to establish predictors of glyburide success in women with gestational diabetes mellitus. *J Perinatol*. 2004 Oct;24(10):617–22.
59. Jacobson GF, Ramos GA, Ching JY, Kirby RS, Ferrara A, Field DR. Comparison of glyburide

- and insulin for the management of gestational diabetes in a large managed care organization. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Jul;193(1):118–24.
60. Langer O. Oral hypoglycemic agents and the pregnant diabetic: “From bench to bedside.” *Semin Perinatol.* 2002 Jun 1;26(3):215–24.
 61. Rochon M, Rand L, Roth L, Gaddipati S. Glyburide for the management of gestational diabetes: Risk factors predictive of failure and associated pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Oct;195(4):1090–4.
 62. Cryer PE. Defining and reporting hypoglycemia in diabetes: A report from the American diabetes association workgroup on hypoglycemia. *Diabetes Care.* 2005 May;28(5):1245–9.
 63. Kremer CJ, Duff P. Glyburide for the treatment of gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 May 1;190(5):1438–9.
 64. Yogev Y, Ben-Haroush A, Chen R, Rosenn B, Hod M, Langer O. Undiagnosed asymptomatic hypoglycemia: Diet, insulin, and glyburide for gestational diabetic pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2004 Jul;104(1):88–93.
 65. Brustman L, Langer O, Scarpelli S, El Daouk M, Fuchs A, Rosenn B. Hypoglycemia in glyburide-treated gestational diabetes: Is it dose-dependent? *Obstet Gynecol.* 2011;117(2):349–53.
 66. Metzger BE, Buchanan TA, Coustan DR, De Leiva A, Dunger DB, Hadden DR, et al. Summary and recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2007;30(SUPPL. 2).
 67. American College of Obstetricians and Gynecologists. Clinical Management Guidelines for Obstetrician – Gynecologists: Gestational Diabetes Mellitus. *Obstet Gynecol.* 2017;133(76):168–86.
 68. American Diabetes Association. Management of diabetes in pregnancy: Standards of medical care in Diabetes. *Diabetes Care.* 2018;41(January):S137–43.
 69. Society of Maternal-Fetal Medicine. SMFM Statement: Pharmacological treatment of gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(5):B2–4.
 70. Mugglestone MA. Guidelines. Management of diabetes from preconception to the postnatal period: Summary of NICE guidance. *BMJ.* 2008;336(7646):714–7.
 71. National Institute for Health and Care Excellence. National Institute for Health and Care Excellence. Diabetes in pregnancy : management from preconception to the postnatal

- period. NICE. 2015.
72. Bertini AM, Silva JC, Taborda W, Becker F, Bebbler FRL, Viesi JMZ, et al. Perinatal outcomes and the use of oral hypoglycemic agents. *J Perinat Med*. 2005 Jan 1;33(6):519–23.
 73. Silva JC, Bertini AM, Taborda W, Becker F, Bebbler FRL, Aquim GMDC, et al. [Glibenclamide in the treatment for gestational diabetes mellitus in a compared study to insulin]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2007 Jun;51(4):541–6.
 74. Ogunyemi D, Jesse M, Davidson M. Comparison of glyburide versus insulin in management of gestational diabetes mellitus. *Endocr Pract*. 2007 Jul 1;13(4):427–8.
 75. Anjalakshi C, Balaji V, Balaji MS, Seshiah V. A prospective study comparing insulin and glibenclamide in gestational diabetes mellitus in Asian Indian women. *Diabetes Res Clin Pract*. 2007 Jun;76(3):474–5.
 76. Moretti ME, Rezvani M, Koren G. Safety of Glyburide for Gestational Diabetes: A Meta-Analysis of Pregnancy Outcomes. *Ann Pharmacother*. 2008 Apr;42(4):483–90.
 77. Dhulkotia JS, Ola B, Fraser R, Farrell T. Oral hypoglycemic agents vs insulin in management of gestational diabetes: A systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;203(5):457.e1-457.e9.
 78. Poolsup N, Suksomboon N, Amin M. Efficacy and safety of oral antidiabetic drugs in comparison to insulin in treating gestational diabetes mellitus: a meta-analysis. Hribal ML, editor. *PLoS One*. 2014 Oct 10;9(10):e109985.
 79. Jiang Y-F, Chen X-Y, Ding T, Wang X-F, Zhu Z-N, Su S-W. Comparative Efficacy and Safety of OADs in Management of GDM: Network Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 May;100(5):2071–80.
 80. Sénat M-V, Affres H, Letourneau A, Coustols-Valat M, Cazaubiel M, Legardeur H, et al. Effect of Glyburide vs Subcutaneous Insulin on Perinatal Complications Among Women With Gestational Diabetes. *JAMA*. 2018 May 1;319(17):1773.
 81. Villar J, Ismail LC, Victora CG, Ohuma EO, Bertino E, Altman DG, et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: The Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet*. 2014;384(9946):857–68.
 82. Affres H, Senat M-V, Letourneau A, Deruelle P, Coustols-Valat M, Bouchghoul H, et al. Glyburide therapy for gestational diabetes: Glycaemic control, maternal

- hypoglycaemia, and treatment failure. *Diabetes Metab.* 2020 Nov;
83. Ramos GA, Hanley AA, Aguayo J, Warshak CR, Kim JH, Moore TR. Neonatal chemical hypoglycemia in newborns from pregnancies complicated by type 2 and gestational diabetes mellitus the importance of neonatal ponderal index. *J Matern Neonatal Med.* 2012;25(3):267–71.
 84. Niemi M, Cascorbi I, Timm R, Kroemer HK, Neuvonen PJ, Kivistö KT. Glyburide and glimepiride pharmacokinetics in subjects with different CYP2C9 genotypes. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Sep;72(3):326–32.
 85. Bouchghoul H, Alvarez JC, Verstuyft C, Bouyer J, Senat MV. Transplacental transfer of glyburide in women with gestational diabetes and neonatal hypoglycemia risk. *PLoS One.* 2020 May 1;15(5).
 86. Elliott BD, Langer O, Schenker S, Johnson RF. Insignificant transfer of glyburide occurs across the human placenta. *Am J Obstet Gynecol.* 1991 Oct;165(4 Pt 1):807–12.
 87. Elliott BD, Schenker S, Langer O, Johnson R, Prihoda T. Comparative placental transport of oral hypoglycemic agents in humans: a model of human placental drug transfer. *Am J Obstet Gynecol.* 1994 Sep;171(3):653–60.
 88. Mohamed Z, Arya VB, Hussain K. Hyperinsulinaemic hypoglycaemia: genetic mechanisms, diagnosis and management. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2012 Dec;4(4):169–81.
 89. Bourget P, Fernandez H, Demirdjian S, Delouis C, Frydman R. [Determination of the ratio of serum concentrations of tobramycin between fetus and mother at birth. A model of small scale pharmacokinetics]. *Arch Fr Pediatr.* 1991 Oct;48(8):543–7.
 90. Royston P, Sauerbrei W. MFP: Multivariable Model-Building with Fractional Polynomials. Chichester. Multivariable model-building. A pragmatic approach to regression analysis based on fractional polynomials for modelling continuous variables. Chichester: John Wiley & Sons; 2008. 2008. 115–150 p.
 91. StataCorp. *Stata Statistical Software: Release 14.* College Station; 2015.
 92. Malek R, Davis SN. Pharmacokinetics, efficacy and safety of glyburide for treatment of gestational diabetes mellitus. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2016 Jun 2;12(6):691–9.
 93. Prendergast BD. Glyburide and glipizide, second-generation oral sulfonylurea hypoglycemic agents. *Clin Pharm.* 1984;3(5):473–85.

94. Kirchheiner J, Brockmöller J, Meineke I, Bauer S, Rohde W, Meisel C, et al. Impact of CYP2C9 amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Apr;71(4):286–96.
95. Kraemer J, Klein J, Lubetsky A, Koren G. Perfusion studies of glyburide transfer across the human placenta: Implications for fetal safety. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Jul;195(1):270–4.
96. Gedeon C, Anger G, Piquette-Miller M, Koren G. Breast Cancer Resistance Protein: Mediating the Trans-placental Transfer of Glyburide across the Human Placenta. *Placenta.* 2008 Jan;29(1):39–43.
97. Pollex E, Lubetsky A, Koren G. The Role of Placental Breast Cancer Resistance Protein in the Efflux of Glyburide across the Human Placenta. *Placenta.* 2008 Aug;29(8):743–7.
98. Shuster DL, Risler LJ, Prasad B, Calamia JC, Voellinger JL, Kelly EJ, et al. Identification of CYP3A7 for glyburide metabolism in human fetal livers. *Biochem Pharmacol.* 2014 Dec 15;92(4):690–700.
99. Cornblath M, Hawdon JM, Williams AF, Aynsley-Green A, Ward-Platt MP, Schwartz R, et al. Controversies regarding definition of neonatal hypoglycemia: Suggested operational thresholds. *Pediatrics.* 2000;105(5):1141–5.
100. Holtrop PC. The Frequency of Hypoglycemia in Full-Term Large and Small for Gestational Age Newborns. *Am J Perinatol.* 1993;10(2):150–4.
101. Olmos PR, Borzone GR, Poblete A. Gestational Diabetes: Glycemic Control in the Last Two Weeks Before Delivery Contributes to Newborn Insulinemia. *J Obstet Gynaecol Canada.* 2018;40(11):1445–52.
102. González-Quintero VH, Istwan NB, Rhea DJ, Rodriguez LI, Cotter A, Carter J, et al. The impact of glycemic control on neonatal outcome in singleton pregnancies complicated by gestational diabetes. *Diabetes Care.* 2007 Mar;30(3):467–70.
103. Das S, Irigoyen M, Patterson MB, Salvador A, Schutzman DL. Neonatal outcomes of macrosomic births in diabetic and non-diabetic women. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2009 Nov;94(6).
104. Linder N, Lahat Y, Kogan A, Fridman E, Kouadio F, Melamed N, et al. Macrosomic newborns of non-diabetic mothers: Anthropometric measurements and neonatal complications. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2014;99(5).
105. Bollepalli S, Dolan LM, Miodovnik M, Feghali M, Khoury JC. Asymmetric large-for-

- gestational-age infants of type 1 diabetic women: Morbidity and abdominal growth. *Am J Perinatol.* 2010;27(8):603–9.
106. Ballard JL, Rosenn B, Khoury JC, Miodovnik M. Diabetic fetal macrosomia: Significance of disproportionate growth. *J Pediatr.* 1993;122(1):115–9.
 107. Chen LW, Tint MT, Fortier M V., Aris IM, Shek LPC, Tan KH, et al. Which anthropometric measures best reflect neonatal adiposity? *Int J Obes.* 2018;42(3):501–6.
 108. Villar J, Puglia FA, Fenton TR, Cheikh Ismail L, Staines-Urias E, Giuliani F, et al. Body composition at birth and its relationship with neonatal anthropometric ratios: The newborn body composition study of the INTERGROWTH-21 st project. *Pediatr Res.* 2017;82(2):305–16.
 109. Turner D, Monthé-Drèze C, Cherkerzian S, Gregory K, Sen S. Maternal obesity and cesarean section delivery: additional risk factors for neonatal hypoglycemia? *J Perinatol.* 2019;39(8):1057–64.
 110. Royston P, Sauerbrei W. A new approach to modelling interactions between treatment and continuous covariates in clinical trials by using fractional polynomials. *Stat Med.* 2004;23(16):2509–25.
 111. Orsini N. A procedure to tabulate and plot results after flexible modeling of a quantitative covariate. *Stata J.* 2011;11(1):1–29.
 112. Thevarajah A, Simmons D. Risk factors and outcomes for neonatal hypoglycaemia and neonatal hyperbilirubinaemia in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus: a single centre retrospective 3-year review. *Diabet Med.* 2019;36(9):1109–17.
 113. Barquiel B, Herranz L, Martínez-Sánchez N, Montes C, Hillman N, Bartha JL. Increased risk of neonatal complications or death among neonates born small for gestational age to mothers with gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2020;159.
 114. Thompson-Branch A, Havranek T. Neonatal hypoglycemia. *Pediatr Rev.* 2017;38(4):147–57.
 115. Hawdon JM. Babies born after diabetes in pregnancy: What are the short- and long-term risks and how can we minimise them? Vol. 25, *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology.* Bailliere Tindall Ltd; 2011. p. 91–104.
 116. Flores-le Roux JA, Sagarra E, Benaiges D, Hernandez-Rivas E, Chillaron JJ, Puig de Dou J, et al. A prospective evaluation of neonatal hypoglycaemia in infants of women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 2012;97(2):217–22.

117. Kole MB, Ayala NK, Clark MA, Has P, Esposito M, Werner EF. Factors associated with hypoglycemia among neonates born to mothers with gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2020;43(12):e194–5.
118. McKinlay CJD, Alsweiler JM, Ansell JM, Anstice NS, Chase JG, Gamble GD, et al. Neonatal Glycemia and Neurodevelopmental Outcomes at 2 Years. *N Engl J Med*. 2015 Oct 15;373(16):1507–18.
119. van Kempen AAMW, Eskes PF, Nuytemans DHGM, van der Lee JH, Dijksman LM, van Veenendaal NR, et al. Lower versus Traditional Treatment Threshold for Neonatal Hypoglycemia. *N Engl J Med*. 2020;382(6):534–44.
120. Bouchghoul H, Bouyer J, Senat MV, Mandelbrot L, Letourneau A, Bourcigaux N, et al. Hypoglycemia and Glycemic Control With Glyburide in Women With Gestational Diabetes and Genetic Variants of Cytochrome P450 2C9 and/or OATP1B3. *Clin Pharmacol Ther*. 2020;
121. Teo SK, Ee CH. Hypoglycaemia in the elderly. *Singapore Med J*. 1997 Oct;38(10):432–4.
122. Asplund K, Wiholm BE, Lithner F. Glibenclamide-associated hypoglycaemia: a report on 57 cases. *Diabetologia*. 1983 Jun;24(6):412–7.
123. Holstein A, Plaschke A, Ptak M, Egberts E-H, El-Din J, Brockmöller J, et al. Association between CYP2C9 slow metabolizer genotypes and severe hypoglycaemia on medication with sulphonylurea hypoglycaemic agents. *Br J Clin Pharmacol*. 2005 Jul;60(1):103–6.
124. Morin S, Bodin L, Lorient MA, Thijssen HHW, Robert A, Strabach S, et al. Pharmacogenetics of acenocoumarol pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther*. 2004 May;75(5):403–14.
125. Theken KN, Lee CR, Gong L, Caudle KE, Formea CM, Gaedigk A, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline (CPIC) for CYP2C9 and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Clin Pharmacol Ther*. 2020;0(0):1–10.
126. Yang JQ, Morin S, Verstuyft C, Fan LA, Zhang Y, Xu C Di, et al. Frequency of cytochrome P450 2C9 allelic variants in the Chinese and French populations. *Fundam Clin Pharmacol*. 2003 Jun;17(3):373–6.
127. Wang R, Chen K, Wen SY, Li J, Wang SQ. Pharmacokinetics of glimepiride and cytochrome P450 2C9 genetic polymorphisms [2]. Vol. 78, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2005. p. 90–2.
128. Yin OQP, Tomlinson B, Chow MSS. CYP2C9, but not CYP2C19, polymorphisms affect the

- pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in Chinese subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2005 Oct;78(4):370–7.
129. Ragia G, Petridis I, Tavridou A, Christakidis D, Manolopoulos VG. Presence of CYP2C9*3 allele increases risk for hypoglycemia in Type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Pharmacogenomics.* 2009 Nov;10(11):1781–7.
 130. Surendiran A, Pradhan SC, Agrawal A, Subrahmanyam DKS, Rajan S, Anichavezhi D, et al. Influence of CYP2C9 gene polymorphisms on response to glibenclamide in type 2 diabetes mellitus patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2011 Aug 20;67(8):797–801.
 131. Klen J, Dolžan V, Janež A. CYP2C9, KCNJ11 and ABCC8 polymorphisms and the response to sulphonylurea treatment in type 2 diabetes patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2014 Apr 18;70(4):421–8.
 132. Castelán-Martínez OD, Hoyo-Vadillo C, Bazán-Soto TB, Cruz M, Tesoro-Cruz E, Valladares-Salgado A. CYP2C9*3 gene variant contributes independently to glycaemic control in patients with type 2 diabetes treated with glibenclamide. *J Clin Pharm Ther.* 2018 Dec;43(6):768–74.
 133. Suzuki K, Yanagawa T, Shibasaki T, Kaniwa N, Hasegawa R, Tohkin M. Effect of CYP2C9 genetic polymorphisms on the efficacy and pharmacokinetics of glimepiride in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006 May;72(2):148–54.
 134. Zhou K, Donnelly L, Burch L, Tavendale R, Doney ASF, Leese G, et al. Loss-of-Function CYP2C9 Variants Improve Therapeutic Response to Sulfonylureas in Type 2 Diabetes: A Go-DARTS Study. *Clin Pharmacol Ther.* 2010 Jan 30;87(1):52–6.
 135. Chen Y, Chen L, Zhang H, Huang S, Xiong Y, Xia C. Interaction of Sulfonylureas with Liver Uptake Transporters OATP1B1 and OATP1B3. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2018 Aug 1;123(2):147–54.
 136. Yang F, Liu L, Chen L, Liu M, Liu F, Xiong Y, et al. OATP1B3 (699G>A) and CYP2C9*2, *3 significantly influenced the transport and metabolism of glibenclamide and glipizide. *Sci Rep.* 2018 Dec 1;8(1):1–9.
 137. Schwarz UI, Schwabedissen HEMZ, Tirona RG, Suzuki A, Leake BF, Mokrab Y, et al. Identification of novel functional organic anion-transporting polypeptide 1B3 polymorphisms and assessment of substrate specificity. *Pharmacogenet Genomics.* 2011 Mar;21(3):103–14.
 138. Yang F, Xiong X, Liu Y, Zhang H, Huang S, Xiong Y, et al. CYP2C9 and OATP1B1 genetic

- polymorphisms affect the metabolism and transport of glimepiride and gliclazide. *Sci Rep*. 2018 Jul 20;8(1):10994.
139. Lek M, Karczewski KJ, Minikel E V., Samocha KE, Banks E, Fennell T, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature*. 2016 Aug 17;536(7616):285–91.
 140. Becker ML, Visser LE, Trienekens PH, Hofman A, van Schaik RHN, Stricker BHC. Cytochrome P450 2C9 *2 and *3 polymorphisms and the dose and effect of sulfonylurea in type II diabetes mellitus. *Clin Pharmacol Ther*. 2008 Feb 27;83(2):288–92.
 141. Zu Schwabedissen HEM, Boettcher K, Steiner T, Schwarz UI, Keiser M, Kroemer HK, et al. OATP1B3 is expressed in pancreatic b-islet cells and enhances the insulinotropic effect of the sulfonylurea derivative glibenclamide. *Diabetes*. 2014 Feb;63(2):775–84.
 142. Rothman KJ. No adjustments are needed for multiple comparisons. *Epidemiology*. 1990 Jan;1(1):43–6.
 143. Haute Autorité de Santé. Règles de bonnes pratiques en génétique constitutionnelle à des fins médicales (Hors diagnostic prénatal). 2013;1–17. Available from: https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2013-02/regles_de_bonne_pratique_en_genetique_constitutionnelle_a_des_fins_medicales.pdf
 144. Kawasaki Y, Zhang F, Miyaoka E. Comparisons of test statistics for noninferiority test for the difference between two independent binominal proportions. *Am J Biostat*. 2010;1:23–31.
 145. Elie C, De Rycke Y, Jais JP, Marion-Gallois R, Landais P. Methodological and statistical aspects of equivalence and non inferiority trials. Vol. 56, *Revue d'Epidemiologie et de Sante Publique*. Elsevier Masson SAS; 2008. p. 267–77.
 146. Rowan JA, Rush EC, Plank LD, Lu J, Obolonkin V, Coat S, et al. Metformin in gestational diabetes: The offspring follow-up (MiG TOFU): Body composition and metabolic outcomes at 7-9 years of age. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2018 Apr 1;6(1).
 147. Rowan JA, Rush EC, Obolonkin V, Battin M, Wouldes T, Hague WM. Metformin in gestational diabetes: The offspring follow-up (MiG TOFU) - Body composition at 2 years of age. *Diabetes Care*. 2011 Oct;34(10):2279–84.

Annexes

Annexe n°1: Publication intitulée “Transplacental transfer of glyburide in women with gestational diabetes and neonatal hypoglycemia risk.”

PLOS ONE

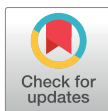
RESEARCH ARTICLE

Transplacental transfer of glyburide in women with gestational diabetes and neonatal hypoglycemia risk

Hanane Bouchghoul^{1,2*}, Jean-Claude Alvarez³, Céline Verstuylt⁴, Jean Bouyer^{6,2}, Marie-Victoire Senat^{1,2}

1 Department of Gynecology-Obstetrics, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Bicêtre Hospital, Le Kremlin-Bicêtre, France, **2** Université Paris-Saclay, UVSQ, Inserm, CESP, Villejuif, France, **3** Département de Pharmacologie-Toxicologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Raymond Poincaré, MasSpecLab, Plateforme de spectrométrie de masse, Inserm U-1173, UFR PIFO, Université Versailles Saint Quentin-en-Yvelines, Garches, France, **4** Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Bicêtre, Service de Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Inserm U 1178 équipe Dépression, CESP, Université Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France

* hanane.bouchghoul@aphp.fr



OPEN ACCESS

Citation: Bouchghoul H, Alvarez J-C, Verstuylt C, Bouyer J, Senat M-V (2020) Transplacental transfer of glyburide in women with gestational diabetes and neonatal hypoglycemia risk. PLoS ONE 15(5): e0232002. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232002>

Editor: Zhong-Cheng Luo, Mount Sinai Health System, University of Toronto, CANADA

Received: October 3, 2019

Accepted: April 3, 2020

Published: May 7, 2020

Copyright: © 2020 BOUCHGHOUL et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: Data of the Indao study cannot be shared publicly as it contains sensitive patient information and is the property of AP-HP. The authors of this article did not have special access privileges to it. They have contracted with AP-HP to analyze them. Consultation of the data by other interested researchers may be considered by AP-HP, subject to prior determination of the terms and conditions of such consultation and in respect for compliance with the applicable French and European regulations. The request must be addressed to the

Abstract

Background

In pregnant women with gestational diabetes, glyburide can be an alternative to insulin despite concerns about its transplacental transfer. However, transplacental transfer of glyburide is poorly quantified and the relationship between cord blood glyburide concentration and hypoglycemia has not been studied. Our objective was to quantify the transplacental transfer of glyburide at delivery and to study the association between the cord blood glyburide concentration and the risk of neonatal hypoglycemia in patients with gestational diabetes treated with glyburide.

Methods and findings

INDAO was a multicenter, noninferiority, randomized trial conducted between May 2012 and November 2016 in 914 women with singleton pregnancies and gestational diabetes. An ancillary study was conducted in the 87 patients of the Bicêtre University Hospital Center. The sample consisted of 46 patients with utilizable assays at delivery. The relationships between glyburide concentration and the time since the last intake of glyburide and between fetal glyburide concentration and neonatal hypoglycemia were modeled with linear or logistic regressions using fractional polynomials. There was placental transfer of glyburide at a fetal to maternal ratio of 62% (95% CI [50; 74]). Umbilical cord blood glyburide concentration decreased steeply after the last maternal glyburide intake. After 24 hours, the mean umbilical cord blood concentration was less than 5 ng/mL. Neonatal hypoglycemia risk was increased with an odds ratio of hypoglycemia equal to 3.70 [1.40–9.77] for each 10 ng/mL increase in the cord blood glyburide concentration. However, no newborns were admitted to the NICU because of clinical signs of hypoglycemia or for treatment of hypoglycemia.

Delegation for Clinical Research and Innovation (DRCI) at secretariat-direction.drci@aphp.fr.

Funding: This study was funded by a research grant from the French Ministry of Health and was sponsored by Paris Public Hospitals (AP-HP, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris), via its Clinical Research Department. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Conclusion

Considering that neonatal glyburide exposure may be limited by stopping treatment a sufficient time before labor, there may still be a place for glyburide in the management of gestational diabetes.

Introduction

Gestational diabetes occurs in 9% to 25% of pregnancies, and its prevalence has increased over the last three decades due to the obesity epidemic [1–4]. The current recommended treatment in the case of failure of dietary intervention is insulin therapy. However, this treatment is costly and requires several injections per day, which can reduce compliance, so that oral anti-diabetic therapy such as glyburide has been proposed as an alternative.

Meta-analyses of randomized trials comparing glyburide to insulin have found increased macrosomia and neonatal hypoglycemia risks with glyburide [5–10], although these were not their primary criteria. Recently, the INDAO randomized noninferiority trial [11] suggested that the increase in neonatal complications is no more than 10.5% and concerns mainly neonatal hypoglycemia. Moreover, glyburide was associated with better glycemic control despite an increased risk of maternal hypoglycemia [11]. This leaves a potential role for glyburide therapy and calls for better understanding of its transplacental transfer.

An early study found no placental transfer of glyburide [12], but in this study the detection limit for glyburide was high and improvements in assay techniques in two more recent studies [13,14] showed that there is placental transfer with an estimated average ratio of umbilical cord to maternal blood glyburide concentration at delivery of 0.70 [13].

Neonatal hypoglycemia is usually considered to be a consequence of fetal hyperinsulinism induced by maternal hyperglycemia in the context of poorly controlled gestational diabetes [15]. However, it is unclear in pregnant women treated with glyburide whether neonatal hypoglycemia is associated with the placental transfer of glyburide.

The aims of this study were to describe and quantify, with current assay techniques, the transplacental transfer of glyburide at delivery in pregnant women treated with glyburide and to study the association with the risk of neonatal hypoglycemia.

Material and methods

The study data were derived from an ancillary study of the INDAO (Insulin Daonil) randomized trial in which maternal and cord blood samples were collected to assess the transplacental transfer of glyburide [11].

INDAO was a multicenter, noninferiority, randomized trial conducted between May 2012 and November 2016 in 13 French tertiary care university hospitals in 914 women with singleton pregnancies and gestational diabetes diagnosed between 24 and 34 weeks of gestation [11]. Women who required pharmacologic treatment after 10 days of dietary intervention were randomly assigned to receive glyburide (n = 460) or insulin (n = 454).

The starting dosage for glyburide was 2.5 mg orally once per day and could be increased if necessary 4 days later by 2.5 mg and thereafter by 5 mg every 4 days in 2 morning and evening doses, up to a maximum of 20 mg/day. If the maximum tolerated dosage was reached without achieving the desired glucose values of less than 95 mg/dL for fasting measurements and less than 120 mg/dL for 2-hour postprandial measurements, treatment was switched to insulin.

Women were advised not to take their glyburide treatment when labor was approaching. The treatment was stopped upon admission to the delivery room hourly monitoring of capillary blood glucose was implemented.

Management consisted of self-monitoring 4 times a day, with blood glucose targets of less than 95 mg/dL for fasting and less than 120 mg/dL for 2-hour postprandial values. Each woman had a blood glucose meter and a notebook to record blood glucose levels, which she filled out prospectively. The notebook was made available for evaluation of glycemic control (separately for fasting and postprandial blood glucose) by the percentage of blood glucose levels outside the target range. Good glycemic control was defined as a percentage below 20%.

An ancillary study was conducted in the Bicêtre University Hospital Center. All the patients randomized to the glyburide group in this center and still receiving glyburide at delivery were invited to participate. The study consisted of sampling 5 mL of blood from the mother and 5 mL of cord blood at the time of delivery. The blood sample assays were performed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. Intra- and inter-assay coefficient of variation was 1 ng/mL, and the method was linear between 1 and 500 ng/mL. Intra- and inter-assay coefficients of variation evaluated at 3, 30 and 300 ng/mL were less than 6.5% [16]. In addition to maternal and umbilical cord blood glyburide concentrations, the variables recorded included: general characteristics of the woman (age, parity, weight gain, history of diabetes), daily glyburide dosage received by the woman, time between delivery and the last intake, neonatal outcomes such as macrosomia (defined as birth weight greater than 4000 g or above the 90th percentile for gestational age), hypoglycemia (defined as capillary blood glucose less than 36 mg/dL), hyperbilirubinemia (defined as the need for phototherapy without another cause of jaundice).

Monitoring of newborns was identical to what is usually recommended for newborns of mothers with diabetes. Capillary blood glucose was measured before the first feeding, before the second feeding, and then every 3 hours, before feeding, for asymptomatic newborns. Hypoglycemia was defined in the analysis as blood glucose below 36 mg/dL (<2 mmol/L) after 2 hours of life.

Transplacental transfer of glyburide was quantified by the ratio of umbilical cord over maternal blood concentration [17].

The INDAO trial protocol, including this ancillary study for which patients provided additional informed consent, was approved by the ethics committee of the Poissy St-Germain Hospital (France) and registered at clinicaltrials.gov (Identifier NCT01731431). Data were collected by research staff members from medical records including medical history and outcome data.

For the statistical analysis, we first studied the relationship between maternal and fetal glyburide concentrations and quantified the transplacental transfer of glyburide. Then, we modeled the relationship between maternal glyburide concentration and the time since the last intake of glyburide. Finally, we modeled the association between fetal glyburide concentration and neonatal hypoglycemia. Quantitative variables were described with mean and standard deviation (SD) or median and IQR (interquartile range) according to their distribution. The relationships between outcomes (cord or maternal blood glyburide concentration and neonatal hypoglycemia) and independent variables (which may be depending on the case the time period since the last oral glyburide intake or cord or maternal blood glyburide concentration) were modeled with linear or logistic regressions using fractional polynomials, which give an optimal data fit [18]. The statistical analyses were performed with Stata 14 [19].

Results

Of 914 patients included in the INDAO randomized trial, 173 were in the Bicêtre University Hospital Center. Of these 173 patients, 87 were randomized to the glyburide group (Fig 1): 4

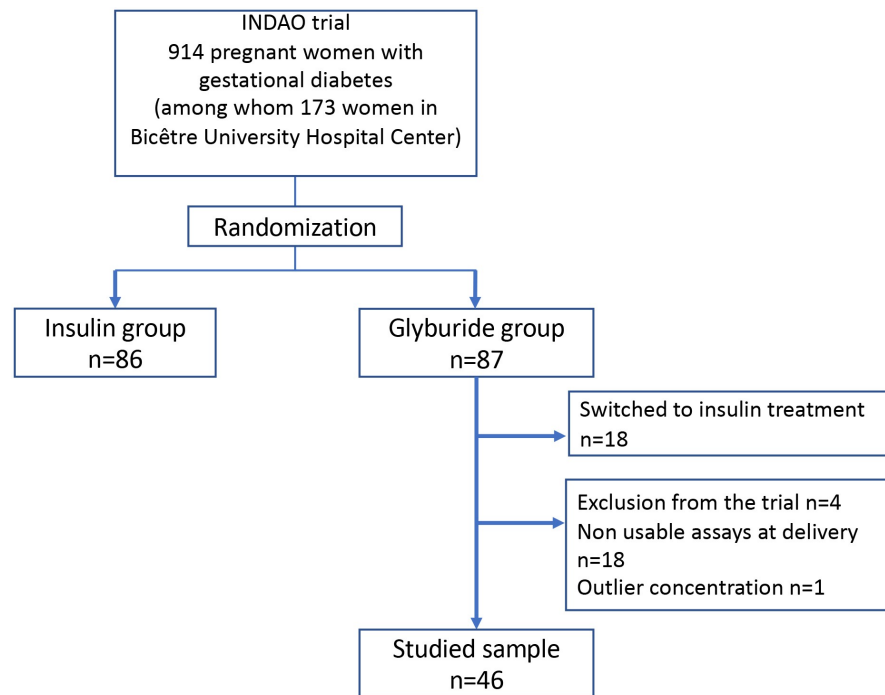


Fig 1. Flow chart.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232002.g001>

patients were excluded from the trial (type 2 diabetes, pharmacotherapy unnecessary, lost to follow-up, treatment refused), and 18 patients were switched to insulin treatment due to inadequate blood glucose control. Finally, 65 patients were eligible for the study, of whom 18 had no available sample. Moreover, 1 patient was excluded because of isolated outlier concentrations despite the checking of the assays (100 ng/mL in umbilical cord blood and 150 ng/mL in maternal blood); the newborn of this patient did not present hypoglycemia. Finally, the sample consisted of 46 patients with utilizable assays at delivery.

The general characteristics of the 46 remaining patients are given in [Table 1](#). The 19 patients who were eligible but either had no blood sample or an unusable blood sample (and were thus excluded) had similar characteristics. In particular, the quality of the glycemic control during pregnancy was similar in these two groups.

[Table 2](#) shows the glyburide concentrations in umbilical cord plasma and in maternal plasma at delivery. The mean ratio between cord and maternal blood concentration was 0.62 (95% CI [0.50–0.74]). Last glyburide dose intake before delivery was significantly and positively associated with cord blood glyburide concentration (result not shown, $p < 0.01$).

There was a strong and significant ($p < 0.001$) relationship between umbilical cord and maternal blood concentration ([Fig 2](#)).

Table 1. General characteristics of the 46 patients treated with glyburide.

Characteristics	Sampling, n = 46
Age (years)	30.9 (5.0)
Multiparity	31 (67.4%)
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²)	26.1 (3.7)
Weight gain during pregnancy (kg)	11.6 (5.6)
Previous gestational diabetes	9 (19.6%)
Gestational age at diagnosis, (weeks ^{+days})	27 ⁺⁰ [25 ⁺³ –27 ⁺⁶]
Gestational age at randomization, (weeks ^{+days})	32 ⁺¹ [31 ⁺⁰ –34 ⁺¹]
Glycemic control during pregnancy	
Good fasting blood glucose *	35/42 (83.3%)
Good postprandial blood glucose †	24/42 (57.1%)
Gestational age at delivery (weeks ^{+days})	38 ⁺⁰ [37 ⁺⁵ –39 ⁺⁰]
Mode of delivery	
Spontaneous labor	14 (30.4%)
Induction of labor	29 (63.0%)
Planned Cesarean section	3 (6.6%)

Data are n (%), mean (sd), or median [interquartile range] unless otherwise specified.

BMI: body mass index

* good fasting blood glucose is defined as less than 20% of fasting blood glucose measurements > 95 mg/dL

† good postprandial blood glucose is defined as less than 20% of fasting blood glucose measurements > 120 mg/dL

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232002.t001>

The median time elapsed since the last oral glyburide intake at delivery was 16.0 hours (IQR [10.5–24.2]). After adjustment for the last glyburide dose intake, there was a large and significant ($p < 0.001$) decrease in umbilical and maternal blood concentration with time since the last dose (Fig 3). After 24 hours, the mean umbilical cord blood concentration was less than 5 ng/mL.

The proportion of neonatal hypoglycemia was 17.4% (95% CI [0.08–0.31]) in the 46 neonates of the sample and increased significantly according to the cord blood glyburide concentration ($p < 0.01$) (Fig 4). The fractional polynomial showed a linear relationship (in logit unit) that could be summarized by an odds ratio (OR) of hypoglycemia equal to 3.70 [1.40–9.77] for each 10 ng/mL increase in the cord blood glyburide concentration. This strong relationship was unchanged after adjustment for macrosomia (adjusted OR = 4.65 [1.36–15.94], $p = 0.01$). However, no neonate developed severe clinical signs of hypoglycemia. No newborns were admitted to the NICU because of hypoglycemia or for treatment of hypoglycemia.

Table 2. Pharmacologic characteristics of cord and maternal blood samples, n = 46.

Characteristic	Median [IQR*]
Maternal blood glyburide concentration at delivery (ng/mL)	9.9 [3.7–27.0]
Cord blood glyburide concentration at delivery (ng/mL)	6.8 [2.1–14.8]
Ratio between cord blood and maternal plasma glyburide concentrations	0.62 (0.50–0.74)**
Daily dosage of glyburide at the end of pregnancy (mg)	7.5 [3.25–10.0]
Time since the last oral glyburide intake (hours)	16.0 [10.5–24.2]

* Inter Quartile Interval

** mean (95% CI)

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232002.t002>

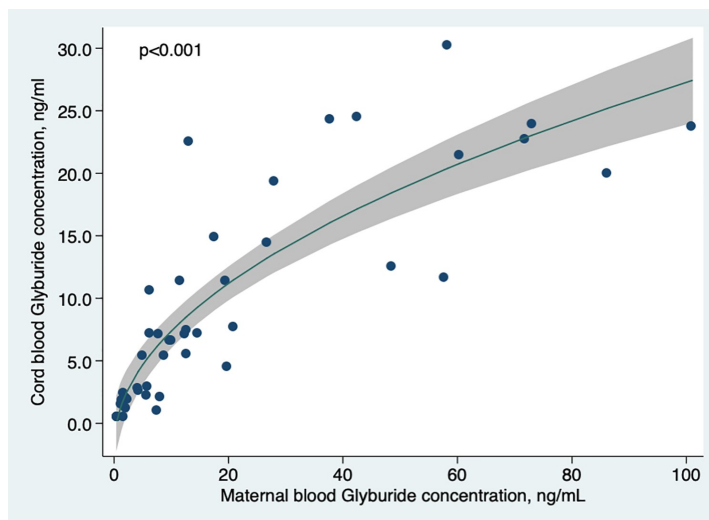


Fig 2. Cord blood glyburide concentration according to maternal blood concentration at delivery. Curve was modeled using fractional polynomials.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232002.g002>

Discussion

Our findings confirm the placental transfer of glyburide, with a fetal to maternal ratio of 62% (95% CI [50–74]). The umbilical cord blood glyburide concentration decreased steeply after the last maternal glyburide intake. The risk of neonatal hypoglycemia increased significantly with umbilical cord blood glyburide concentration, independently of fetal macrosomia at birth. Moreover, no neonate presented severe clinical signs of hypoglycemia.

Our study is the first to look at the entire process from glyburide intake to cord blood concentration and then to assess the risk of neonatal hypoglycemia with assay techniques much more sensitive than those used in studies [12]. However, despite the short elimination half-life of glyburide (about 4 to 10 hours in pregnant women [20,21]), pharmacokinetic data could not be evaluated since this required regular blood sampling over time. Potential limitations of this study are the sample size and the non-availability of 19 assays.

Glyburide is a second-generation hypoglycemic sulfonamide used to treat type 2 diabetes by stimulating insulin secretion by β -pancreatic cells. The pharmacokinetic properties of glyburide are modified in a patient with gestational diabetes during pregnancy [13]. Hebert et al compared the pharmacokinetic properties of glyburide between 40 women treated for gestational diabetes during pregnancy and 40 women treated with type 2 diabetes outside of pregnancy. They found that the maternal blood concentration was half as low during pregnancy. After oral administration, clearance of glyburide was greater in pregnant women (17.1 L/hour) than in non-pregnant women (8.3 L/hour).

Our results are consistent with two previous studies of the transplacental transfer of glyburide [13,14]. In 2009, Hebert et al published the first study to evaluate transplacental transfer and reported a ratio of 0.70 for fetal to maternal blood glyburide concentration at birth in 40

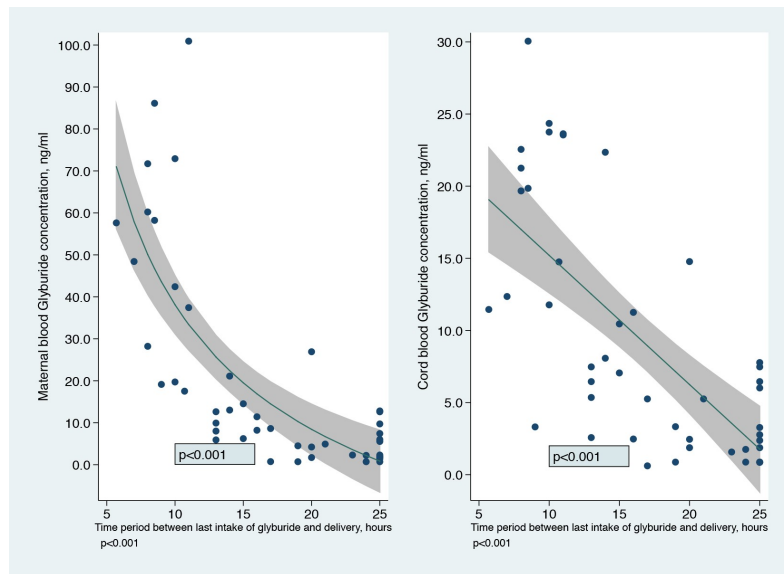


Fig 3. Cord blood and maternal blood glyburide concentrations at delivery according to the time period since the last oral glyburide intake. Curves were modeled using fractional polynomials and adjusted for the last dose of glyburide. They were drawn for the average value of the last dose of glyburide.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232002.g003>

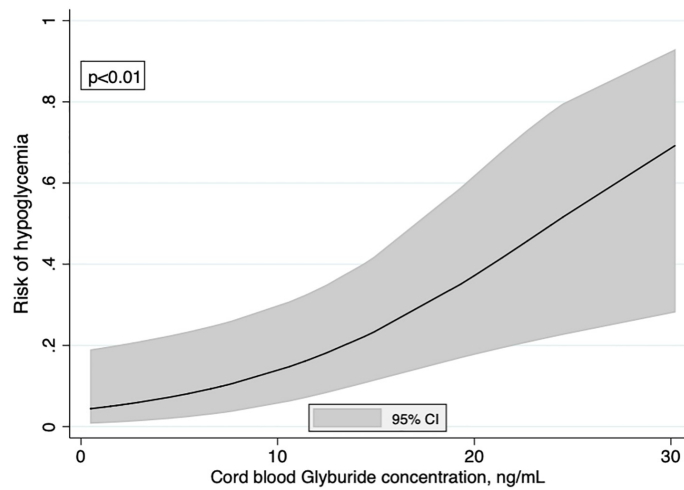


Fig 4. Risk of hypoglycemia according to the cord blood glyburide concentration. Curve was modeled using fractional polynomials.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232002.g004>

patients with gestational diabetes treated with glyburide [13]. Schwartz et al found a weak inverse relationship between cord blood glyburide concentration and neonatal blood glucose levels at 30–40 minutes of life [14].

Our study confirms that glyburide does cross the placental barrier. Because of a greater sample size than previous studies, our study also provides an accurate estimate of the ratio between umbilical cord and maternal blood concentrations. The shape and strength of the relationships were evaluated more accurately since they were modeled with fractional polynomials. In particular, we have highlighted the importance of the time elapsed since the last maternal intake of glyburide. After 24 hours, the umbilical cord blood concentration was less than 5 ng/mL. Combined with the relationship between umbilical cord blood glyburide concentration and risk of hypoglycemia, this suggests that the risk of neonatal hypoglycemia may be reduced to less than 15% if the time since the last intake is extended to 24 hours.

Other assays, of C-peptide for example, could also shed light on the mechanism of hypoglycemia. An elevated C-peptide concentration would be consistent with stimulation of pancreatic β -cells and so with fetal stimulation by glyburide.

Our study opens up the possibility that neonatal hypoglycemia could be reduced by stopping glyburide as soon as possible, and ideally 24 hours before onset of labor. This can be achieved by advising the woman not to take her treatment or by switching to insulin when she is hospitalized for an upcoming delivery. However, the concern remains that fetal exposure to glyburide may have an effect on the potential long-term morbidity associated with the child's endocrine axis.

Many factors, which deserve further study, are involved in maternal blood glyburide concentration and therefore in fetal exposure to glyburide. There are inter-individual variations which can be explained by genetic polymorphisms for CYPs in women because glyburide is partially metabolized by the liver, with the involvement of cytochrome P450 2C9 [22]. Carriers of the CYP2C9 variant have decreased oral clearance of glyburide. Thus, the genetic polymorphism of CYP2C9 could influence glyburide concentrations and side effects like neonatal hypoglycemia. Moreover, Kraemer et al published the first study to show the existence of placental efflux against a gradient concentration using a placental perfusion model [23]. Placental transporters (ABC transporters = ATP binding cassette) have an important role in fetal drug exposure and may therefore account for this efflux process [24,25]. However, the inter-individual variability of placental expression of these proteins has not been studied.

Finally, some authors have shown that human fetal liver metabolizes glyburide and that CYP3A7 is the major enzyme responsible for this metabolism [26]. They also showed that microsomal CYP3A7 protein content in human fetal liver was not affected by fetal sex, genotype, or gestational age. Further work is needed on the long-term outcome of children of diabetic mothers treated with glyburide during pregnancy.

Conclusions

Due to placental transfer of glyburide, its administration in the few hours before delivery was associated with a risk of neonatal hypoglycemia, which, however, was mild and reversible. This risk may be limited in some cases by stopping treatment in sufficient time delay before delivery (planned cesarean section, induction of labor).

Acknowledgments

We thank David Marsh, BSc (Biophysics, First Class Honours, University of Leeds, UK) PhD (Biophysics, King's College London, UK), freelance copyeditor/proofreader, for language editing.

Author Contributions

Conceptualization: Hanane Bouchghoul, Jean-Claude Alvarez, Céline Verstuyft, Jean Bouyer, Marie-Victoire Senat.

Data curation: Hanane Bouchghoul, Jean-Claude Alvarez, Céline Verstuyft.

Formal analysis: Hanane Bouchghoul.

Investigation: Jean Bouyer, Marie-Victoire Senat.

Methodology: Hanane Bouchghoul, Jean Bouyer.

Project administration: Jean Bouyer.

Resources: Jean-Claude Alvarez, Céline Verstuyft.

Supervision: Hanane Bouchghoul, Jean Bouyer, Marie-Victoire Senat.

Validation: Hanane Bouchghoul, Jean Bouyer, Marie-Victoire Senat.

Writing – original draft: Hanane Bouchghoul, Jean Bouyer.

Writing – review & editing: Hanane Bouchghoul, Jean-Claude Alvarez, Céline Verstuyft, Jean Bouyer, Marie-Victoire Senat.

References

1. Moyer VA, U.S. Preventive Services Task Force. Screening for Gestational Diabetes Mellitus: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann Intern Med.* 2014 Mar 18; 160(6):414–20. <https://doi.org/10.7326/M13-2905> PMID: 24424622
2. Durnwald C. Gestational diabetes: Linking epidemiology, excessive gestational weight gain, adverse pregnancy outcomes, and future metabolic syndrome. *Semin Perinatol.* 2015 Jun; 39(4):254–8. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2015.05.002> PMID: 26093518
3. Mack LR, Tomich PG. Gestational Diabetes. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2017 Jun; 44(2):207–17. <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2017.02.002> PMID: 28499531
4. Farrar D. Hyperglycemia in pregnancy: prevalence, impact, and management challenges. *Int J Womens Health.* 2016; 8:519–27. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S102117> PMID: 27703397
5. Moretti ME, Rezvani M, Koren G. Safety of Glyburide for Gestational Diabetes: A Meta-Analysis of Pregnancy Outcomes. *Ann Pharmacother.* 2008 Apr; 42(4):483–90. <https://doi.org/10.1345/aph.1K577> PMID: 18349305
6. Poolsup N, Suksomboon N, Amin M. Efficacy and safety of oral antidiabetic drugs in comparison to insulin in treating gestational diabetes mellitus: a meta-analysis. Hribal ML, editor. *PLoS One.* 2014 Oct 10; 9(10):e109985. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109985> PMID: 25302493
7. Zeng Y, Li M, Chen Y, Jiang L, Wang S, Mo X, et al. The use of glyburide in the management of gestational diabetes mellitus: a meta-analysis. *Adv Med Sci.* 2014 Mar; 59(1):95–101. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2014.03.001> PMID: 24797983
8. Song R, Chen L, Chen Y, Si X, Liu Y, Liu Y, et al. Comparison of glyburide and insulin in the management of gestational diabetes: A meta-analysis. Luo Z-C, editor. *PLoS One.* 2017 Aug 3; 12(8):e0182488. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182488> PMID: 28771572
9. Jiang Y-F, Chen X-Y, Ding T, Wang X-F, Zhu Z-N, Su S-W. Comparative Efficacy and Safety of OADs in Management of GDM: Network Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 May; 100(5):2071–80. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-4403> PMID: 25803270
10. Balsells M, Garcia-Patterson A, Sola I, Roque M, Gich I, Corcoy R. Glibenclamide, metformin, and insulin for the treatment of gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2015 Jan 21; 350
11. Sénat M-V, Affres H, Letourneau A, Coustols-Valat M, Cazaubiel M, Legardeur H, et al. Effect of Glyburide vs Subcutaneous Insulin on Perinatal Complications Among Women With Gestational Diabetes. *JAMA.* 2018 May 1; 319(17):1773. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.4072> PMID: 29715355
12. Langer O, Conway DL, Berkus MD, Xenakis EM-J, Gonzales O. A Comparison of Glyburide and Insulin in Women with Gestational Diabetes Mellitus. *N Engl J Med.* 2000 Oct 19; 343(16):1134–8. <https://doi.org/10.1056/NEJM200010193431601> PMID: 11036118

13. Hebert M, Ma X, Narahariseti S, Krudys K, Umans J, Hankins G, et al. Are We Optimizing Gestational Diabetes Treatment With Glyburide? The Pharmacologic Basis for Better Clinical Practice. *Clin Pharmacol Ther.* 2009 Jun 18; 85(6):607–14. <https://doi.org/10.1038/clpt.2009.5> PMID: 19295505
14. Schwartz RA, Rosenn B, Aleksa K, Koren G. Glyburide transport across the human placenta. *Obstet Gynecol.* 2015 Mar; 125(3):583–8. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000000672> PMID: 25730219
15. Mohamed Z, Arya VB, Hussain K. Hyperinsulinaemic hypoglycaemia: genetic mechanisms, diagnosis and management. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2012 Dec; 4(4):169–81. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.821> PMID: 23032149
16. Li N, Deng Y, Wang D, Qiao Y, Li F. Determination of glibenclamide and puerarin in rat plasma by UPLC-MS/MS: application to their pharmacokinetic interaction study. *Talanta.* 2013; 30:109–15.
17. Bourget P, Fernandez H, Demirdjian S, Delouis C, Frydman R. [Determination of the ratio of serum concentrations of tobramycin between fetus and mother at birth. A model of small scale pharmacokinetics]. *Arch Fr Pediatr.* 1991 Oct; 48(8):543–7. PMID: 1768193
18. Royston P, Sauerbrei W. Multivariable model-building. A pragmatic approach to regression analysis based on fractional polynomials for modelling continuous variables. Chichester: John Wiley & Sons; 2008. 2008.
19. StataCorp. Stata Statistical Software: Release 14. College Station; 2015.
20. Malek R, Davis SN. Pharmacokinetics, efficacy and safety of glyburide for treatment of gestational diabetes mellitus. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2016 Jun 2; 12(6):691–9. <https://doi.org/10.1080/17425255.2016.1187131> PMID: 27163280
21. Prendergast BD. Glyburide and glipizide, second-generation oral sulfonylurea hypoglycemic agents. *Clin Pharm.* 1984; 3(5):473–85. PMID: 6435940
22. Kirchheiner J, Brockmöller J, Meineke I, Bauer S, Rohde W, Meisel C, et al. Impact of CYP2C9 amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Apr; 71(4):286–96. <https://doi.org/10.1067/mcp.2002.122476> PMID: 11956512
23. Kraemer J, Klein J, Lubetsky A, Koren G. Perfusion studies of glyburide transfer across the human placenta: Implications for fetal safety. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Jul; 195(1):270–4.
24. Gedeon C, Anger G, Piquette-Miller M, Koren G. Breast Cancer Resistance Protein: Mediating the Trans-placental Transfer of Glyburide across the Human Placenta. *Placenta.* 2008 Jan; 29(1):39–43. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2007.08.004> PMID: 17923155
25. Pollex E, Lubetsky A, Koren G. The Role of Placental Breast Cancer Resistance Protein in the Efflux of Glyburide across the Human Placenta. *Placenta.* 2008 Aug; 29(8):743–7. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2008.05.001> PMID: 18558430
26. Shuster DL, Risler LJ, Prasad B, Calamia JC, Voellinger JL, Kelly EJ, et al. Identification of CYP3A7 for glyburide metabolism in human fetal livers. *Biochem Pharmacol.* 2014 Dec 15; 92(4):690–700. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.09.025> PMID: 25450675

Annexe n°2: Publication intitulée “Assessment of risk of hypoglycemia by anthropometric measurements in neonates of mothers with treated gestational diabetes.”

1 **Assessment of risk of hypoglycemia by anthropometric measurements in neonates of**
2 **mothers with treated gestational diabetes**

3 Hanane Bouchghoul^{a,b}, MD, Delphine Mitanchez Mokhtari^{c,d}, MD, PhD, Alexandra

4 Letourneau^e, MD Jean Bouyer^b, PhD, Marie-Victoire Senat^{a,b}, MD, PhD

5 **Affiliations**

6 ^a Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Bicêtre Hospital, Department of Gynecology-

7 Obstetrics, Le Kremlin-Bicêtre, France.

8 ^b Université Paris-Saclay, UVSQ, Inserm, CESP, 94807, Villejuif, France

9 ^c Department of Neonatology, Bretonneau Hospital, François Rabelais University, F-37000
10 Tours, France

11 ^dINSERM UMR_S 938 Saint Antoine Research Center, F-75012 Paris, France

12 ^e Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Antoine Béchère Hospital, Department of

13 Gynecology-Obstetrics, Clamart, France.

14

15 **Address correspondence to:**

16 Dr Hanane Bouchghoul

17 Department of Obstetrics and Gynecology, AP-HP, Bicêtre Hospital

18 78, avenue du Général Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, Cedex, France

19 Tel: #33145217780

20 Email: hanane.bouchghoul@gmail.com

21

22 **Short title:** Anthropometrics and hypoglycemia in neonates of diabetic mothers

23 **Conflict of Interest Disclosures:** The authors have no conflicts of interest to disclose.

24 **Funding/Support:**

25 This study was funded by a research grant from the French Ministry of Health and was
26 sponsored by Paris Public Hospitals (AP-HP, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris), via its
27 Clinical Research Department.

28

29 **Abbreviations:** 95% CI: 95% confidence interval; OR: odds ratio; LGA: large for gestational
30 age; SGA: small for gestational age; WG: weeks of gestation; WLR: weight-length ratio

31

32 **What is already known on this topic**

33 Macrosomia in neonates of diabetic and non-diabetic women is a risk factor for neonatal
34 hypoglycemia, with an over-risk for asymmetric macrosomia.

35 Few retrospective studies have shown that small for gestational age is a risk factor for neonatal
36 complications including neonatal hypoglycemia among neonates born to diabetic mothers.

37 **What this study adds**

38 The risk of neonatal hypoglycemia among neonates of diabetic mothers increased for both low
39 and high weight-length ratio, regardless of maternal medicinal treatment, gestational age at
40 birth and sex of the newborn.

41 **Abstract, 282 words**

42 **Objective:** To study the association between anthropometric measurements and hypoglycemia
43 in neonates of mothers treated for gestational diabetes.

44 **Design:** A secondary analysis from the INDAO trial study.

45 **Setting:** May 2012 to November 2016 in 13 French tertiary care university hospitals.

46 **Patients:** 890 women with singleton pregnancies and gestational diabetes diagnosed between
47 24 and 34 weeks of gestation. All women were treated either with insulin or glyburide.

48 **Interventions:** Neonatal anthropometric measurements were birth weight and weight-length
49 ratio (WLR, defined as birth weight (kg)/height (m)). Their relationships with the risk of
50 hypoglycemia were modeled with logistic regressions using fractional polynomials. Extreme
51 categories of birth weight or WLR adjusted for gestational age at birth and sex were defined as
52 Z-score <-1.28 or >1.28 (corresponding to <10th percentile and >90th percentile of neonatal
53 measurements). These categories were compared to Z-score between -1.28 and 1.28 by
54 estimating odds ratios and confidence intervals for neonatal hypoglycemia.

55 **Main outcome measures:** Neonatal hypoglycemia was defined as capillary blood glucose
56 below 36 mg/dL (2 mmol/L) or below 45 mg/dL (2.5 mmol/L) associated with clinical signs
57 after two hours of life.

58 **Results:** Neonatal hypoglycemia occurred in 9.1% of cases. The relationship between birth
59 weight and WLR Z-scores and neonatal risk of hypoglycemia adjusted for maternal treatment
60 was a U-shaped curve. Adjusted odds ratios for the risk of hypoglycemia were 9.6 (95%
61 confidence interval (95% CI): 3.5-26.8) and 2.3 (95% CI: 1.1-4.9) for WLR Z-score below -
62 1.28 and above 1.28 respectively, compared with WLR Z-score between -1.28 and 1.28.

63 **Conclusion:**

64 WLR Z-score was associated with the risk of neonatal hypoglycemia in neonates from mothers
65 treated for gestational diabetes. The risk of neonatal hypoglycemia was increased for both
66 extreme WLR Z-scores, regardless of maternal treatment.

67 **Introduction**

68 The definition of neonatal hypoglycemia in the literature has remained controversial for years
69 ¹ and its incidence varies from 7% to 16%, according to the definition. ²⁻⁴ Maternal and neonatal
70 risk factors for neonatal hypoglycemia have been reported, such as poor maternal glycemic
71 control, management of gestational diabetes, macrosomia, small for gestational age (SGA) and
72 preterm delivery. ^{1,4-6}

73 The HAPO study, a large prospective cohort excluding women with overt diabetes, suggested
74 that there is a relationship between maternal blood glucose levels and fetal insulin production,
75 ⁵ and showed that the frequency of neonatal hypoglycemia tended to increase with increasing
76 maternal blood glucose levels. Indeed, hypoglycemia is a well-known consequence of fetal
77 hyperinsulinism in neonates born to mothers with untreated ⁷ or poorly controlled gestational
78 diabetes mellitus. ^{8,9} Macrosomia is also related to hyperinsulinism ⁵ and was reported to be
79 associated with hypoglycemia, regardless of maternal diabetes. ¹⁰

80 Studies including non-diabetic macrosomia or neonates of diabetic women treated with insulin
81 or glyburide for gestational diabetes or type 2 diabetes reported an over-risk of hypoglycemia
82 in asymmetric macrosomia. ¹¹⁻¹³ These findings show that the role of weight distribution and
83 neonatal fat mass may be greater than the role of weight itself in the risk of neonatal
84 hypoglycemia. Several studies have attempted to identify anthropometric measures that best
85 reflect body fatness among newborn infants. In a retrospective study, ponderal index, defined
86 as birth weight (g)/height (cm)³ x 100, was reported to be a strong predictor of neonatal
87 hypoglycemia among neonates of women treated with insulin or glyburide for gestational
88 diabetes or type 2 diabetes.¹⁴ However, in one retrospective study in non-diabetic women
89 showing an increased risk of neonatal hypoglycemia in asymmetric macrosomic infants, the
90 tool that yielded significant results in identifying macrosomic infants at risk was weight/length
91 ratio (WLR), while PI was not found to be significant.¹¹ More recently, one study reported that

92 simple anthropometric measures such as weight and weight/length correlated strongly with
93 neonatal adiposity.¹⁵ In addition, using the same population of the Intergrowth-21st Newborn
94 Size Standards (n = 20,479), Villard et al. showed that WLR at birth best predicts body
95 composition parameters because of its stronger relationship with both fat mass and fat-free
96 mass.¹⁶

97 In women with diabetes, the risk of neonatal hypoglycemia appears to be the result of combined
98 risk factors such as maternal blood glucose levels,⁹ maternal treatment,^{6,17} and birth weight.¹⁸
99 However, no studies have evaluated the role of neonatal anthropometrics independently of such
100 variables in the risk of neonatal hypoglycemia in newborns of mothers treated for gestational
101 diabetes. In addition, there are few data on the association between the risk of hypoglycemia
102 and low body fat mass in neonates from diabetic mothers. Thus, we lack robust data related to
103 risk factors of neonatal hypoglycemia in women with gestational diabetes based on prospective
104 studies.

105

106 The aim of this study was to investigate the association between neonatal anthropometric
107 measurements (WLR and birthweight) and neonatal hypoglycemia in newborns of women
108 treated either with insulin or glyburide for gestational diabetes.

109

110

111 **Methods**

112 This is a secondary analysis of the INDAO (Insulin Daonil) trial. ¹⁷ INDAO is a multicenter,
113 noninferiority, randomized trial conducted between May 2012 and November 2016 in 13
114 French tertiary care university hospitals in women with singleton pregnancies and gestational
115 diabetes diagnosed between 24 and 34 weeks of gestation (WG). ¹⁷ Women who required
116 pharmacologic treatment after 10 days of dietary intervention were randomly assigned to
117 receive glyburide (n=448) or insulin (n=442). In the glyburide group, 81 (18.1%) women were
118 switched to insulin. The primary outcome was a composite criterion including macrosomia,
119 neonatal hypoglycemia, and hyperbilirubinemia. The trial did not show that glyburide is
120 noninferior to insulin for this composite criterion, with a difference between the proportion of
121 composite criterion between glyburide and insulin groups of less than 10.5%. Exclusion criteria
122 were pre-gestational diabetes, fasting blood glucose concentration greater than 126 mg/dL (7
123 mmol/L), glucose screening test performed before 24 WG, multiple pregnancy, chronic
124 hypertension, preeclampsia, and known liver or renal disease.

125 **Measurements**

126 Outcomes

127 Neonatal hypoglycemia was defined as capillary blood glucose less than 36 mg/dL (2 mmol/L)
128 or less than 45 mg/dL (2.5 mmol/L) associated with clinical signs suggestive of hypoglycemia
129 after two hours of life. ¹ Hypoglycemia detected using a blood glucose test strip was confirmed
130 by a laboratory assay of a blood sample collected in a fluoropolymer tube.

131 Hyperbilirubinemia was defined as the need for phototherapy without another cause of
132 jaundice.

133 Anthropometric data

134 In all maternity units, neonatal anthropometrics were measured at birth by trained midwives.
135 Birth weight was measured to the nearest gram on an electronic scale and birth length was
136 measured to the nearest centimeter using a standardized measuring board for length.
137 We used the birth weight and the WLR standards (Z-score) by gestational age and sex published
138 by the Newborn Cross-Sectional Study of the Intergrowth-21st Project.^{16,19}

139

140 *Maternal*

141 For each woman, overall glycemic control was quantified by computing the percentage of blood
142 glucose values exceeding targets (≥ 95 mg/dL for fasting and ≥ 120 mg/dL for 2 hours
143 postprandial) in all her blood glucose assays, from randomization to delivery. Two categories
144 of glycemic control were defined (and estimated separately for fasting and postprandial blood
145 glucose): “optimal glycemic control” ($\leq 20\%$ of blood glucose values exceeding targets) and
146 “sub-optimal glycemic control” (percentage $> 20\%$).²⁰

147

148 **Statistics**

149 Continuous data were described by their means \pm standard deviation and compared by Student’s
150 t-tests, and categorical data were described by percentages and compared by chi-square tests.
151 Maternal and neonatal characteristics were compared between newborns with and without
152 hypoglycemia. The relationships between anthropometrics (birth weight or WLR) and the risk
153 of neonatal hypoglycemia were modeled with a logistic regression using fractional polynomials
154 that give an optimal data fit.²¹ This method provides curves and their 95% confidence intervals
155 (95% CI) and allows estimation of odds ratios for the risk of hypoglycemia.^{22,23} Adjustment for
156 maternal treatment (glyburide, insulin or glyburide switched to insulin) was performed.
157 In a normal distribution, the Z-score values corresponding to the 10th and 90th percentile
158 were -1.28 and 1.28, respectively. Extreme categories of birth weight or WLR adjusted for

159 gestational age at birth and sex were defined as Z-score <-1.28 or >1.28 . These categories were
160 compared to Z-score between -1.28 and 1.28 by estimating odds ratios and confidence intervals
161 for neonatal hypoglycemia adjusted for maternal treatment.

162 Analysis was performed in the population of neonates after excluding neonates born before 34
163 WG, as Villard et al showed that the increase in fat mass is linear from this gestational age until
164 the end of pregnancy.¹⁶

165 STATA 14.2 software (StataCorp, College Station, TX) was used for all analyses. P-values
166 <0.05 were considered statistically significant.

167 **Ethics**

168 The INDAO trial protocol, including this ancillary study for which patients provided
169 additional informed consent, was approved by the ethics committee of the Poissy St-Germain
170 Hospital (France) and registered in clinicaltrials.gov (NCT01731431). Data were collected by
171 research staff members from medical records including medical history and outcome data.

172 **Results**

173 During the study period, 890 pregnant women with gestational diabetes were included and
174 randomized between glyburide and insulin treatment. Among them, four women were excluded
175 because they delivered before 34 WG. The rate of neonatal hypoglycemia was 9.1% (81/886).

176 Table 1 displays the maternal characteristics according to the occurrence of neonatal
177 hypoglycemia. Maternal characteristics and quality of glycemetic control were similar in the two
178 groups. Gestational age at delivery was significantly lower for neonates who had neonatal
179 hypoglycemia (38,4 WG +/-1.6 versus 39,1 WG +/-1.3, $p=0.001$). Also, preterm delivery
180 between 34 and 37 WG was significantly associated with neonatal hypoglycemia (12 (14.8%)
181 versus 31 (3.8%) $p<0.001$).

182 Table 2 displays neonatal characteristics according to the occurrence of neonatal hypoglycemia.
183 Birth weight was significantly lower among neonates who presented hypoglycemia (3238 g +/-
184 639 versus 3358 g +/- 454, $p=0.03$). WLR was also significantly lower for neonates who had
185 neonatal hypoglycemia: 6.53 kg/m +/-1.06 versus 6.76 kg/m +/-0.75 ($p= 0.01$). The proportion
186 of children with a WLR Z-score < -1.28 was significantly higher among those with
187 hypoglycemia than among those without hypoglycemia: 12.3% versus 4.0%, respectively.
188 Likewise, the proportion of children with a WLR Z-score > 1.28 was significantly higher among
189 those with hypoglycemia than among those without hypoglycemia: 23.5% versus 21.0%,
190 respectively (Table 2).

191 The curve modeling the relationship between birth weight Z-score and the risk of neonatal
192 hypoglycemia adjusted for maternal treatment was U-shaped and showed a higher risk for SGA
193 neonates and a minimal risk for a birth weight between -1.28 and 1.28 Z-score (Figure 1). The
194 curve modeling the relationship between WLR Z-score and the risk of neonatal hypoglycemia
195 adjusted for maternal treatment was also U-shaped (Figure 2). Adjusted odds ratios of the risk
196 of hypoglycemia were 9.7 (95% confidence interval (95% CI): 3.5-26.8) and 2.3 (95% CI: 1.1-

197 4.9) for WLR Z-score < -1.28 and WLR Z-score > 1.28 respectively, compared with the WLR
198 Z-score between -1.28 and 1.28 (Figure 2).
199

200 **Discussion**

201 *Main results*

202 Our study shows a strong association between WLR and the risk of neonatal hypoglycemia in
203 neonates of mothers treated for gestational diabetes. The risk of neonatal hypoglycemia was
204 increased for both low WLR Z-score (below -1.28, corresponding to the 10th percentile of
205 WLR) and high WLR Z-score (greater than 1.28, corresponding to the 90th percentile),
206 regardless of maternal treatment. The same associations were found between the risk of
207 hypoglycemia and birth weight Z-score.

208

209 *Literature*

210 To date, few retrospective studies have evaluated the relationship between anthropometric
211 neonatal data and neonatal hypoglycemia in newborns from mothers treated for gestational
212 diabetes.

213 In a recent retrospective study in 767 women with gestational diabetes, the authors aimed to
214 determine the risk factors associated with hypoglycemia.²⁴ They found that lower gestational
215 age at diagnosis, higher fasting glucose on the oral glucose tolerance test (OGTT) and history
216 of macrosomia were antenatal factors independently associated with neonatal hypoglycemia.
217 As in our study, the authors found that mean birth weight was lower among newborns with
218 neonatal hypoglycemia than newborns without hypoglycemia. But the authors did not study
219 indices of body fat mass as risk factors and did not consider the population of SGA newborns.

220 ²⁴

221 Previous studies that have evaluated the association between anthropometric data and risk of
222 hypoglycemia included neonates from non-diabetic mothers.⁵ They showed higher rates of
223 hypoglycemia in the asymmetric macrosomic newborns, defined by an anthropometric index
224 above the 90th percentile (including WLR, body mass index and ponderal index).¹¹
225 In our study, we found that the association between WLR and the risk of neonatal hypoglycemia
226 was consistent with the literature,¹⁴ as the risk of neonatal hypoglycemia was increased when
227 WLR Z-score increased above 1.28. But, we also found that the risk of neonatal hypoglycemia
228 was increased when WLR Z-score decreased below -1.28. Thus, neonates from diabetic
229 mothers with extreme WLR Z-score are a population at higher risk of neonatal hypoglycemia.
230 One retrospective study found that SGA is an important risk factor for a composite score of
231 neonatal metabolic complications or perinatal death among neonates born to mothers with
232 gestational diabetes treated with diet or insulin.²⁵ This study compared the clinical outcomes of
233 neonates born to 3413 women according to three birthweight groups: SGA (defined by <10th
234 percentile according to sex and gestational age birthweight customized percentile charts),
235 normal birth weight and LGA (defined by > 90th percentile according to sex and gestational age
236 birthweight customized percentile charts). Neonatal complications were more frequent in the
237 SGA group (20.1%) than in the normal birth weight (9.9%) or LGA (15.2%) groups.²⁵ Rates
238 of hypoglycemia were 7.4% in the SGA group and 10.9% in the LGA group, compared to 4.0%
239 in the normal group (p<0.001).²⁵ SGA neonates may be predisposed to neonatal hypoglycemia
240 due to both inadequate glycogen stores, inadequate substrate source for gluconeogenesis and
241 also hyperinsulinism in response to maternal hyperglycemia.²⁶ Transient hyperinsulinism has
242 also been reported in intrauterine growth restriction, irrespective of maternal glycemic status.²⁷
243 In SGA neonates, insufficient glycogen and fat stores in addition to hyperinsulinism may
244 explain this increased risk of hypoglycemia compared to LGA neonates.

245 We found in this study that more women were treated with glyburide in the group of neonates
246 with hypoglycemia. These results are in line with those previously published by our group in
247 the INDAO trial.¹⁷ A previous meta-analysis showed an increased risk of neonatal
248 hypoglycemia in newborns from mothers treated with glyburide compared to mothers treated
249 with insulin, but no difference in the risk of severe neonatal hypoglycemia.²⁸

250 *Strengths and limitations*

251 This is the first study to evaluate the association between anthropometric data and neonatal
252 hypoglycemia in newborns from women with gestational diabetes treated either with insulin or
253 glyburide in a prospective study. Our data are drawn from a large national multicenter
254 randomized trial¹⁷ including a population with varied maternal characteristics, particularly with
255 regard to geographical origins. Actually, few prospective studies have been conducted on the
256 risk of hypoglycemia in neonates from diabetic mothers and, in some, patient populations were
257 heterogeneous as they included both gestational diabetes and type 2 diabetes.^{11,14,24,29,30} So,
258 whether diabetes changes the relationship between anthropometric data and hypoglycemia
259 remains unclear. Furthermore, we have considered WLR, which is the indicator most strongly
260 related to body fat-free mass and fat mass in newborns.^{15,16} WLR is less prone to measurement
261 errors than ponderal index since it does not require the cube of the size at birth, which may be
262 difficult to measure accurately, but the size at birth itself. Finally, an important strength of our
263 study is that WLR was studied as a standardized continuous variable (*Z*-score), unlike previous
264 studies,^{11,14} thus allowing us to study the two extremes of the population: SGA as well as LGA
265 neonates. The standardization of birth weight and WLR with the *Z*-score allowed us to take into
266 account the neonate's sex and gestational age at birth.

267 Our study has some limitations. It is an ancillary study of the INDAO randomized trial whose
268 primary objective was not the relationship between anthropometrics and hypoglycemia.
269 Therefore, some parameters are missing. Maternal blood glucose levels at delivery were not

270 recorded, as we only know whether or not they were out of target at the follow-up visits.
271 Secondly, to better understand the mechanism of hypoglycemia and the role of hyperinsulinism,
272 additional assays, such as of cord blood C-peptide, could help. Given the small number of
273 hypoglycemic newborns, the ORs have a wide confidence interval and therefore low precision.
274 However, this does not change the fact that they are significantly different from 1.

275 *Perspectives*

276 One of the issues that remains is the risk of long-term consequences of neonatal hypoglycemia,
277 because of potentially permanent neurological injury. The brain is actually dependent on
278 glucose as its main substrate for energy metabolism. In a prospective cohort study involving
279 404 neonates considered to be at risk for hypoglycemia, neonatal hypoglycemia was not
280 associated with an adverse neurologic outcome at two years when treatment was provided to
281 maintain a blood glucose concentration of at least 47 mg per deciliter.³¹ More recently, a
282 randomized study compared two threshold values for treatment of neonatal hypoglycemia and
283 reported that a glucose threshold of 36 mg/dL was not inferior to a threshold of 47 mg/dL in
284 initiation of treatment as regards psychomotor development at 18 months.³² So, data on the
285 effect of treated transient hypoglycemia on neurologic development are reassuring, but the
286 screening of at-risk neonates from diabetic mothers remains a major issue. Attention should be
287 focused on neonates with the highest and lowest WLR, the latter being at greater risk, at least
288 metabolically.

289

290 **Conclusion**

291 Our study found that increased risk of neonatal hypoglycemia is associated with extreme values
292 of WLR, including decreased WLR but also increased WLR, regardless of maternal medicinal
293 treatment, gestational age at birth and sex of the newborn. Caution should be taken with SGA

294 neonates of women with treated gestational diabetes because of an increased risk compared to
295 LGA neonates.

296 **Acknowledgments**

297 We thank the women who participated in this study, the midwives and obstetricians involved
298 in their care, and David Marsh for his help in editing this manuscript.

299 **References**

- 300 1. Cornblath M, Hawdon JM, Williams AF, et al. Controversies regarding definition of
301 neonatal hypoglycemia: Suggested operational thresholds. *Pediatrics*.
302 2000;105(5):1141-1145. doi:10.1542/peds.105.5.1141
- 303 2. Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, et al. Effect of Treatment of Gestational Diabetes
304 Mellitus on Pregnancy Outcomes. *N Engl J Med*. 2005;352(24):2477-2486.
305 doi:10.1056/NEJMoa042973
- 306 3. Landon MB, Spong CY, Thom E, et al. A Multicenter, Randomized Trial of Treatment
307 for Mild Gestational Diabetes. *N Engl J Med*. 2009;361(14):1339-1348.
308 doi:10.1056/NEJMoa0902430
- 309 4. Holtrop PC. The Frequency of Hypoglycemia in Full-Term Large and Small for
310 Gestational Age Newborns. *Am J Perinatol*. 1993;10(2):150-154. doi:10.1055/s-2007-
311 994649
- 312 5. Metzger BE, Persson B, Lowe LP, et al. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy
313 Outcome Study: Neonatal Glycemia. *Pediatrics*. 2010;126(6):e1545-e1552.
314 doi:10.1542/peds.2009-2257
- 315 6. Bouchghoul H, Alvarez JC, Verstuyft C, Bouyer J, Senat MV. Transplacental transfer
316 of glyburide in women with gestational diabetes and neonatal hypoglycemia risk. *PLoS*
317 *One*. 2020;15(5). doi:10.1371/journal.pone.0232002
- 318 7. Langer O, Yogev Y, Most O, Xenakis EMJ. Gestational diabetes: The consequences of
319 not treating. In: *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. Vol 192. Mosby Inc.;
320 2005:989-997. doi:10.1016/j.ajog.2004.11.039
- 321 8. Olmos PR, Borzone GR, Poblete A. Gestational Diabetes: Glycemic Control in the
322 Last Two Weeks Before Delivery Contributes to Newborn Insulinemia. *J Obstet*
323 *Gynaecol Canada*. 2018;40(11):1445-1452. doi:10.1016/j.jogc.2018.01.026
- 324 9. González-Quintero VH, Istwan NB, Rhea DJ, et al. The impact of glycemic control on
325 neonatal outcome in singleton pregnancies complicated by gestational diabetes.
326 *Diabetes Care*. 2007;30(3):467-470. doi:10.2337/dc06-1875
- 327 10. Das S, Irigoyen M, Patterson MB, Salvador A, Schutzman DL. Neonatal outcomes of
328 macrosomic births in diabetic and non-diabetic women. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*
329 *Ed*. 2009;94(6). doi:10.1136/adc.2008.156026
- 330 11. Linder N, Lahat Y, Kogan A, et al. Macrosomic newborns of non-diabetic mothers:
331 Anthropometric measurements and neonatal complications. *Arch Dis Child Fetal*
332 *Neonatal Ed*. 2014;99(5). doi:10.1136/archdischild-2013-305032

- 333 12. Bollepalli S, Dolan LM, Miodovnik M, Feghali M, Khoury JC. Asymmetric large-for-
334 gestational-age infants of type 1 diabetic women: Morbidity and abdominal growth. *Am*
335 *J Perinatol*. 2010;27(8):603-609. doi:10.1055/s-0030-1249362
- 336 13. Ballard JL, Rosenn B, Khoury JC, Miodovnik M. Diabetic fetal macrosomia:
337 Significance of disproportionate growth. *J Pediatr*. 1993;122(1):115-119.
338 doi:10.1016/S0022-3476(05)83503-6
- 339 14. Ramos GA, Hanley AA, Aguayo J, Warshak CR, Kim JH, Moore TR. Neonatal
340 chemical hypoglycemia in newborns from pregnancies complicated by type 2 and
341 gestational diabetes mellitus the importance of neonatal ponderal index. *J Matern*
342 *Neonatal Med*. 2012;25(3):267-271. doi:10.3109/14767058.2011.573828
- 343 15. Chen LW, Tint MT, Fortier M V., et al. Which anthropometric measures best reflect
344 neonatal adiposity? *Int J Obes*. 2018;42(3):501-506. doi:10.1038/ijo.2017.250
- 345 16. Villar J, Puglia FA, Fenton TR, et al. Body composition at birth and its relationship
346 with neonatal anthropometric ratios: The newborn body composition study of the
347 INTERGROWTH-21 st project. *Pediatr Res*. 2017;82(2):305-316.
348 doi:10.1038/pr.2017.52
- 349 17. Sénat M-V, Affres H, Letourneau A, et al. Effect of Glyburide vs Subcutaneous Insulin
350 on Perinatal Complications Among Women With Gestational Diabetes. *JAMA*.
351 2018;319(17):1773. doi:10.1001/jama.2018.4072
- 352 18. Turner D, Monthé-Drèze C, Cherkerzian S, Gregory K, Sen S. Maternal obesity and
353 cesarean section delivery: additional risk factors for neonatal hypoglycemia? *J*
354 *Perinatol*. 2019;39(8):1057-1064. doi:10.1038/s41372-019-0404-z
- 355 19. Villar J, Ismail LC, Victora CG, et al. International standards for newborn weight,
356 length, and head circumference by gestational age and sex: The Newborn Cross-
357 Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet*. 2014;384(9946):857-
358 868. doi:10.1016/s0140-6736(14)60932-6
- 359 20. Affres H, Senat M-V, Letourneau A, et al. Glyburide therapy for gestational diabetes:
360 Glycaemic control, maternal hypoglycaemia, and treatment failure. *Diabetes Metab*.
361 November 2020. doi:10.1016/j.diabet.2020.11.002
- 362 21. Royston P, Sauerbrei W. A new approach to modelling interactions between treatment
363 and continuous covariates in clinical trials by using fractional polynomials. *Stat Med*.
364 2004;23(16):2509-2525.
- 365 22. Orsini N. A procedure to tabulate and plot results after flexible modeling of a
366 quantitative covariate. *Stata J*. 2011;11(1):1-29.

- 367 23. Sauerbrei W, Royston P. Building multivariable prognostic and diagnostic models:
368 transformation of the predictors by using fractional polynomials. *J R Stat Soc.*
369 1999;162(1):71-94.
- 370 24. Thevarajah A, Simmons D. Risk factors and outcomes for neonatal hypoglycaemia and
371 neonatal hyperbilirubinaemia in pregnancies complicated by gestational diabetes
372 mellitus: a single centre retrospective 3-year review. *Diabet Med.* 2019;36(9):1109-
373 1117. doi:10.1111/dme.13962
- 374 25. Barquiel B, Herranz L, Martínez-Sánchez N, Montes C, Hillman N, Bartha JL.
375 Increased risk of neonatal complications or death among neonates born small for
376 gestational age to mothers with gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.*
377 2020;159. doi:10.1016/j.diabres.2019.107971
- 378 26. Thompson-Branch A, Havranek T. Neonatal hypoglycemia. *Pediatr Rev.*
379 2017;38(4):147-157. doi:10.1542/pir.2016-0063
- 380 27. Hawdon JM. Babies born after diabetes in pregnancy: What are the short- and long-
381 term risks and how can we minimise them? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.*
382 2011;25(1):91-104. doi:10.1016/j.bpobgyn.2010.10.005
- 383 28. Song R, Chen L, Chen Y, et al. Comparison of glyburide and insulin in the
384 management of gestational diabetes: A meta-analysis. Luo Z-C, ed. *PLoS One.*
385 2017;12(8):e0182488. doi:10.1371/journal.pone.0182488
- 386 29. Flores-le Roux JA, Sagarra E, Benaiges D, et al. A prospective evaluation of neonatal
387 hypoglycaemia in infants of women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res*
388 *Clin Pract.* 2012;97(2):217-222. doi:10.1016/j.diabres.2012.03.011
- 389 30. Kole MB, Ayala NK, Clark MA, Has P, Esposito M, Werner EF. Factors associated
390 with hypoglycemia among neonates born to mothers with gestational diabetes mellitus.
391 *Diabetes Care.* 2020;43(12):e194-e195. doi:10.2337/dc20-1261
- 392 31. McKinlay CJD, Alsweiler JM, Ansell JM, et al. Neonatal Glycemia and
393 Neurodevelopmental Outcomes at 2 Years. *N Engl J Med.* 2015;373(16):1507-1518.
394 doi:10.1056/NEJMoa1504909
- 395 32. van Kempen AAMW, Eskes PF, Nuytemans DHGM, et al. Lower versus Traditional
396 Treatment Threshold for Neonatal Hypoglycemia. *N Engl J Med.* 2020;382(6):534-
397 544. doi:10.1056/nejmoa1905593
- 398
- 399

400 **List of tables**

401 **Table 1.** Maternal and obstetrical characteristics according to the occurrence of neonatal
402 hypoglycemia

403 Data are expressed in mean (+/- standard deviation) or n (%).

404

n=886	No neonatal hypoglycemia n=805	Neonatal hypoglycemia n=81	p
General characteristics			
Maternal age (years)	32.8 +/-5.2	32.9 +/-5.2	0.99
Previous gestational diabetes	167 (20.7%)	12 (14.8%)	0.25
Pre-gestational BMI (kg/m ²)	27.6 +/- 5.7	27.2 +/- 5.5	0.52
Geographical origin			
Europe	333/746 (44.6%)	28/76 (36.8%)	0.56
North Africa	253/746 (33.9%)	31/76 (40.8%)	
Sub-Saharan Africa	120/746 (16.1%)	13/76 (17.1%)	
Asia	40/746 (5.4%)	4/76 (5.3%)	
Characteristics of the diabetes			
Gestational age at diagnosis	26 ⁺⁶ +/-2.2	26 ⁺⁵ +/-1.9	0.41
Sub-optimal fasting glycemic control*	313 (38.9%)	33 (40.7%)	0.74
Sub-optimal postprandial glycemic control*	426 (52.9%)	44 (54.3%)	0.82
Maternal treatment			
Insulin	410 (50.9%)	32 (39.5%)	0.04
Glyburide	319 (39.6%)	44 (54.3%)	
Glyburide switched to insulin	76 (9.5%)	5 (6.2%)	
Obstetrical characteristics			
Gestational age at delivery	39 ⁺² +/-1.3	38 ⁺⁵ +/-1.6	0.001
Preterm delivery between 34 and 37 WG	31 (3.8%)	12 (14.8%)	<0.001
Mode of delivery			
Vaginal delivery	593/805 (73.7%)	51/81 (63.0%)	0.05
Cesarean section	212/805 (26.3%)	30/81 (37.0%)	

405

406

407 *For each woman, overall glycemic control was quantified by computing the percentage of blood glucose values
408 exceeding targets (≥ 95 mg/dL for fasting and ≥ 120 mg/dL for 2 hours postprandial) in all her blood glucose
409 assays, from randomization to delivery. Two categories of glycemic control were defined (and estimated separately
410 for fasting and postprandial blood glucose): "optimal glycemic control" ($\leq 20\%$ of blood glucose values exceeding
411 targets) and "sub-optimal glycemic control" (percentage $> 20\%$).

412

413 **Table 2.** Neonatal characteristics according to the occurrence of neonatal hypoglycemia
 414 Data are expressed in mean (+/- standard deviation) or n (%).

415

416

n=886	No neonatal hypoglycemia	Neonatal hypoglycemia	p
	n=805	n=81	
Birth weight (grams)	3358 +/-454	3238 +/-639	0.03
Birth weight Z-score			
< -1.28	26 (3.2%)	10 (12.3%)	<0.001
between -1.28 and +1.28	655 (81.4%)	51 (63.0%)	
> 1.28	124 (15.4%)	20 (24.7%)	
Size cm	49.6 +/-2.2	49.3 +/-2.8	0.40
Weight-length ratio (kg/m)	6.76 +/-0.75	6.53 +/-1.06	0.01
Weight-length ratio Z-score			
< -1.28	32 (4.0%)	10 (12.3%)	0.002
between -1.28 and +1.28	604 (75.0%)	52 (64.2%)	
> 1.28	169 (21.0%)	19 (23.5%)	
Respiratory distress syndrome	27 (3.4%)	5 (6.2%)	0.20
Hyperbilirubinemia	26 (3.2%)	5 (6.0%)	0.20
Place of hospitalization			
Hospital ward	742 (92.4%)	54 (66.7%)	<0.001
Intensive care unit	45 (5.6%)	24 (29.6%)	
Neonatal resuscitation	16 (2.0%)	3 (3.7%)	
Umbilical arterial cord blood pH			
below 7.10	25/722 (3.5%)	5/74 (6.8%)	0.19
Arterial cord blood lactate			
Below 6 mmol/L	403/481 (83.8%)	33/51 (64.7%)	0.001
Between 6 and 9 mmol/L	65/481 (13.5%)	12/51 (23.5%)	
Above 9 mmol/L	13/481 (2.7%)	6/51 (11.8%)	

417

418

419

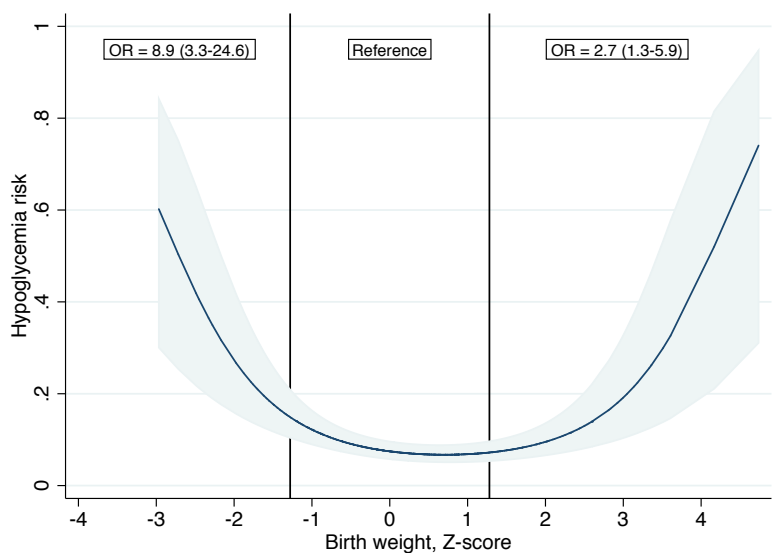
420

421 **List of figures**

422 **Figure 1.** Relationship between rate of hypoglycemia and birth weight Z-score for gestational

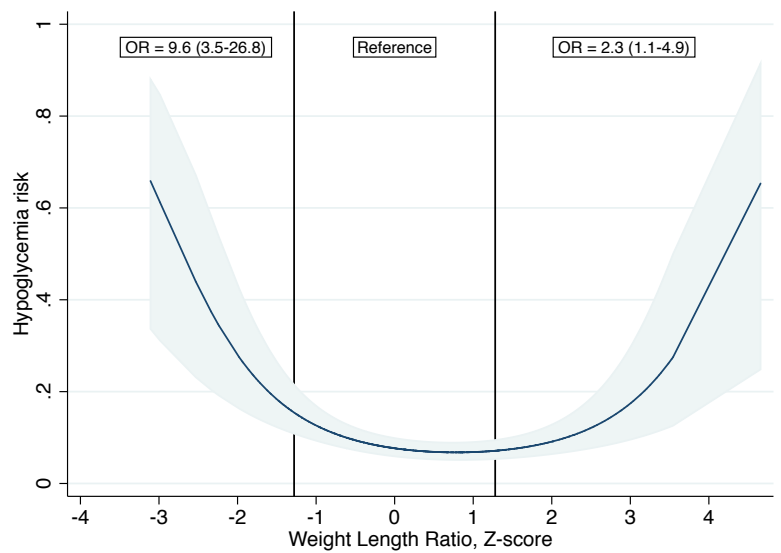
423 age at birth and sex of the newborn.

424 Modeling using a fractional polynomial, adjustment for maternal treatment.



425

426 **Figure 2.** Relationship between rate of hypoglycemia and the weight-length ratio Z-score for
427 gestational age at birth and sex of the newborn.
428 Modeling using a fractional polynomial, adjustment for maternal treatment.



429



ARTICLE

Hypoglycemia and Glycemic Control With Glyburide in Women With Gestational Diabetes and Genetic Variants of Cytochrome P450 2C9 and/or OATP1B3

Hanane Bouchghoul^{1,2,*}, Jean Bouyer², Marie-Victoire Senat^{1,2}, Laurent Mandelbrot³, Alexandra Letourneau⁴, Nathalie Bourcigaux⁵, Laurent Becquemont^{2,6} and Céline Verstuyft^{2,6}

Glyburide is mainly metabolized by the cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) enzyme and enters the liver via the transporter OATP1B3. The variants *OATP1B3*4* (699 G>A; rs7311358) and *CYP2C9*2* and **3* are known to have a significant influence on the hepatic uptake and metabolism of glyburide, with lower clearance than in the wild type. In an ancillary study of the INDAO trial, we selected 117 pregnant women with gestational diabetes treated by glyburide and assessed the role of the combined *CYP2C9* and *OATP1B3* genetic polymorphisms in hypoglycemia and glyceic control. Three groups were constituted: (1) the wild-type genotype group (wild-type allele genotype for both *CYP2C9*1* and *OATP1B3*1* (699G)), (2) the intermediate group (carriers of *CYP2C9*2* allele or *OATP1B3*4* (699G>A) heterozygous), and (3) the variant group (carriers of *CYP2C9*3* allele and/or *OATP1B3*4* (699G>A) homozygous variant). We found that the risk of hypoglycemia was significantly higher in the variant genotype at the second week of treatment: 20.0% (4/20) vs. 8.1% (3/37) in the intermediate group and 4.1% (2/49) in the wild-type genotype group ($P = 0.03$). The last daily dose of glyburide during pregnancy was lower for patients in the variant genotype group: 4.7 mg (SD 3.5) vs. 8.7 mg (SD 5.7) in the wild-type group and 5.7 mg (SD 3.7) in the intermediate group ($P < 0.01$). In conclusion, the no-function variants *CYP2C9*3* and *OATP1B3*4* are associated with a higher risk of hypoglycemia and a lower dose of glyburide in women with gestational diabetes treated with glyburide, which is consistent with the pharmacokinetic roles of both *CYP2C9* and *OATP1B3*.

Study Highlights

WHAT IS THE CURRENT KNOWLEDGE ON THE TOPIC?

☑ Patient carriers of the decreased and no-function *CYP2C9*2* and **3* alleles with type 2 diabetes mellitus were found to present a higher rate of hypoglycemia with sulfonylurea hypoglycemic therapy.

WHAT QUESTION DID THIS STUDY ADDRESS?

☑ This study assessed the role of both *OATP1B3* and *CYP2C9* genetic polymorphisms in the risk of hypoglycemia and glyceic control in pregnant women with gestational diabetes treated by glyburide.

WHAT DOES THIS STUDY ADD TO OUR KNOWLEDGE?

☑ In women with gestational diabetes, there is an increased risk of hypoglycemia at the beginning of treatment by glyburide in carriers of *CYP2C9*3* and homozygous *OATP1B3*4*, associated with a smaller increase in glyburide dose and a lower dose reached at the end of treatment.

HOW MIGHT THIS CHANGE CLINICAL PHARMACOLOGY OR TRANSLATIONAL SCIENCE?

☑ *CYP2C9*3* and *OATP1B3*4* screening might be useful to identify women with gestational diabetes at high risk for hypoglycemia.

Glyburide (also known as glibenclamide) is a second-generation sulfonylurea, a long-acting antidiabetic drug, mainly metabolized in the liver by the cytochrome P450 2C9 enzyme (CYP2C9). This hepatic drug-metabolizing enzyme is responsible for the

clearance of various drugs, such as orally administered hypoglycemic agents and anticoagulants as well as nonsteroidal anti-inflammatory drug.^{1,2} The hepatic metabolism of hypoglycemic sulfonylurea is genetically determined, because of *CYP2C9* genetic

¹Department of Gynecology-Obstetrics, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Bicêtre Hospital, Le Kremlin-Bicêtre, France; ²CESP, Université Paris-Saclay, UVSQ, Inserm, Villejuif, France; ³Department of Gynecology and Obstetrics, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Louis Mourier Hospital, Colombes, France; ⁴Department of Gynecology and Obstetrics, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Antoine Béclère Hospital, Clamart, France; ⁵Department of Endocrinology, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, St Antoine Hospital Paris, Paris, France; ⁶Service de Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Bicêtre, Paris, France. *Correspondence: Hanane Bouchghoul (hanane.bouchghoul@aphp.fr)

Received May 27, 2020; accepted November 25, 2020. doi:10.1002/cpt.2142

polymorphisms. Two functional *CYP2C9* genetic polymorphisms in the White population (*CYP2C9*2*; rs1799853 (Arg144Cys) and *CYP2C9*3*; rs1057910 (Ile359Leu)) have been associated with decreased *CYP2C9* enzyme activity, which affects the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide.^{3–5} *CYP2C9*3* is a no-function variant, whereas *CYP2C9*2* is a decreased function variant whose effect in terms of enzymatic activity is much weaker than that of the *CYP2C9*3* variant.⁶ Approximately 10% of the European population carries a no-function genetic variant of *CYP2C9* (*CYP2C9*3*)^{7,8}; those patients have a decreased elimination of glyburide, resulting in plasma concentrations three times higher than in the rest of the population.^{9–12} With regard to adverse events, the rate of hypoglycemia with sulfonylurea therapy has been observed in small studies to be higher in carriers of the *CYP2C9*2* and **3* alleles^{5,13}; however, later studies failed to show an effect of *CYP2C9* genetic polymorphisms on the risk of hypoglycemia.^{14,15}

Other studies have shown that patient carriers of the decreased function *CYP2C9*2* and no-function **3* alleles with type 2 diabetes mellitus (T2DM) respond better to treatment with sulfonylurea hypoglycemic agents than those with the wild-type genotype.^{14,16–18}

Furthermore, the hepatic uptake transporters OATP1B1 and OATP1B3 are involved in hepatic uptake of hypoglycemic sulfonylurea, and glyburide is a substrate of OATP1B3.¹⁹ A recent study investigated the effect of *OATP1B3* and *CYP2C9* genetic polymorphisms on glyburide hepatic uptake and metabolism.²⁰ It showed that the *OATP1B3*4* (699 G>A; rs7311358) variant and *CYP2C9*2* and **3* had a significant influence on the hepatic uptake and metabolism of glyburide, with lower clearance than in the wild type.²⁰ To date, no study has assessed *OATP1B3* genetic polymorphisms in patients with diabetes treated with glyburide.

Glyburide could be an alternative to insulin for gestational diabetes, but its use needs to be better understood. Recently, our group published the INDAO noninferiority randomized trial comparing during pregnancy effects of glyburide and insulin on neonatal morbidity.²¹ A secondary result is that the trial found an increased risk of maternal hypoglycemia in the glyburide group. Due to the study design with defined inclusion criteria and random allocation of treatment, women treated with glyburide are representative of women with gestational diabetes. If it is assumed that women carriers of the *CYP2C9*3* and/or *OATP1B3*4* alleles have a lower glyburide hepatic uptake and metabolism than wild-type women, they should present a higher risk of hypoglycemia soon after drug introduction and their glycemic control at steady-state should be obtained with a lower glyburide dose.

The first aim of this study was to determine the association between maternal hypoglycemic episodes and the decreased function variants *CYP2C9*2* and the no-function variants *CYP2C9*3* and *OATP1B3*4*. The second aim was to study the association of glyburide daily dose with the decreased and no-function allele carriers.

MATERIALS AND METHODS

The Insulin Daonil trial (INDAO) was a multicenter noninferiority randomized trial conducted between May 2012 and November 2016 in 13 French tertiary care university hospitals in 914 women with singleton

pregnancies and gestational diabetes diagnosed between 24 and 34 weeks of gestation.²¹ Women who required pharmacological treatment after 10 days of dietary intervention were randomly assigned to receive glyburide ($n = 460$) or insulin ($n = 454$). The starting dose for glyburide was 2.5 mg orally once a day and could be increased if necessary 4 days later to 2.5 mg twice a day and thereafter to 5 mg every 4 days, in 2 morning and evening doses, up to a maximum of 20 mg/day. In the case of symptomatic hypoglycemia or blood glucose < 60 mg/dL, glyburide dose could be decreased or returned to the previous dose. If the maximum tolerated dose was reached without achieving the desired glucose values of < 95 mg/dL for fasting measurements and < 120 mg/dL for 2-hour postprandial measurements, treatment was switched to insulin. If the treatment was poorly tolerated because of too frequent hypoglycemia, glyburide could also be switched to insulin. The follow-up visits were planned at day 4, day 8, day 12, day 16, day 21, and day 28.

An ancillary pharmacogenetics study was conducted in four hospitals of the Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (Paris Public Hospitals). All the patients randomized to the glyburide group in these centers were invited to participate. The study consisted in sampling 5 mL of blood from the mother at any time during the pregnancy. DNA was extracted from peripheral circulating leukocytes according to the manufacturer's instructions, using the Qiasymphony instrument (Qiagen, France). Genotyping was performed by the Taqman allelic discrimination technique using commercially available kits, as previously published.² All samples were analyzed at the pharmacogenetics laboratory of the University Hospital of Bicêtre. Genotyping of *CYP2C9*2* (rs1799853), *CYP2C9*3* (rs1057910), and *OATP1B3*4* (699 G>A; rs7311358) genetic polymorphisms was accomplished using the ABI Prism 7900HT Applied Biosystems real-time thermal cycler (Applied Biosystems, Courtabouf, France). All genotype analyses were performed twice in separate experiments to check the validity of each genotyping. The concordance between the two independent analyses was found to be 100%. Hardy-Weinberg equilibrium was tested for using the χ^2 test for each genetic polymorphism.

At each visit, the patient's blood glucose measurements and treatment intakes since the previous visit were recorded. Fasting and postprandial glycemic control, maternal hypoglycemia (blood glucose < 60 mg/dL), and glyburide dose were collected. During the visits, glycemic control was assessed using the patient's blood glucose logbook, including morning fasting and postprandial blood glucose in the morning, at lunch, and at dinner. Blood glucose targets were 95 mg/dL fasting and 120 mg/dL postprandial. Overall glycemic control per woman during treatment was quantified by computing the percentage of out-of-target blood glucose values, from randomization to delivery. The variables recorded included daily glyburide dose received by the woman, last dose of glyburide, control of diabetes assessed by the percentage of fasting, and postprandial out-of-target blood glucose values. The last dose of glyburide corresponds to the last dose received before delivery, which occurred after 36 weeks of gestation. Treatment was adjusted according to the glycemic control and the risk of maternal hypoglycemia.

Data from patients for whom glyburide therapy was switched to insulin were analyzed up to the time of the switch.

Statistical analyses

Carriers of *CYP2C9*1* have normal function, whereas carriers of *CYP2C9*2* have a decreased function variant and carriers of *CYP2C9*3* have a no-function variant.⁷ Concerning *OATP1B3*, we considered that carriers of *OATP1B3*1* have normal function and carriers of one or two *OATP1B3*4* alleles have decreased transport activity compared to the wild type.^{22,23} Therefore, we constituted the three groups according to the *CYP2C9* variant: normal function, decreased function and no function of metabolism, and the *OATP1B3* variant: normal function, decreased function of transport. Three groups were constituted: the wild-type group including patients with the wild-type allele genotype for both *CYP2C9*1* and *OATP1B3*1* (699G), the intermediate group including patient carriers of the decreased function *CYP2C9*2* allele

(including *1/*2 and *2/*2) or *OATP1B3**4 (699G>A) heterozygous variant allele, and the variant group including patient carriers of one or two *CYP2C9**3 no function alleles (including *1/*3, *2/*3, and *3/*3) and/or two *OATP1B3**4 (699G>A) homozygous variant alleles.

Comparisons were performed among the three genotype groups throughout treatment and at each follow-up visit. Qualitative variables were compared by the χ^2 test and quantitative variables by one-way analysis of variance.

The evolution of the glyburide dose during pregnancy was analyzed with a mixed linear model. Data of patients who switched were excluded at the moment they switched. Modeling using fractional polynomials was used to study the association between the glyburide daily dose and the time elapsed since treatment.²⁴ The glyburide daily dose was studied because it reflects treatment adjustment.

The risk of hypoglycemia in the groups was studied by a logistic regression with adjustment for glyburide dose. The percentage of out-of-target blood glucose values was studied in the three patient groups by linear regression with adjustment for glyburide dose. The last dose of glyburide in the groups was studied by linear regression with an adjustment for the body mass index (BMI) to take into account the volume distribution.

Ethics

The INDAO trial protocol, including this ancillary study for which patients provided additional informed consent, was approved by the ethics committee of the Poissy St-Germain Hospital (France) and registered in clinicaltrials.gov (NCT01731431). Data were collected by research staff members from medical records, including medical history and outcome data.

RESULTS

Sample

During the study period, 242 patients started on glyburide therapy, half of whom ($n = 121$) had given consent for genetic analysis. Of these, four patients were excluded because DNA could not be amplified. Consequently, 117 patients were available for the *CYP2C9**2,*3, and *OATP1B3**4 genetic polymorphism analysis. The distribution and frequency of the genotyping of *CYP2C9**2 and *3 and the *OATP1B3* transporter are described in **Table 1**.⁷ In the whole sample, 54 patients had both the wild-type genotype (*CYP2C9**1/*1) and (*OATP1B3**1/*1); they constituted the wild-type group. The intermediate group included 42 patients with heterozygous genotyping for *OATP1B3**1/*4 or carriers of the *CYP2C9**2 allele. The variant group included 21 patients with heterozygous *CYP2C9**1/*3 ($n = 8$) or homozygous *OATP1B3**4/*4 ($n = 13$). No patient was both homozygous (*OATP1B3**4/*4) and a carrier of the *CYP2C9**3 allele. The *CYP2C9**2 and *3

polymorphisms satisfied the requirements for Hardy–Weinberg equilibrium among the full study group of 117 patients ($P = 0.69$ and 0.70), whereas the *OATP1B3**4 genetic polymorphism was not in Hardy–Weinberg equilibrium ($P = 0.01$). However, the frequency of minor alleles for *OATP1B3* was 24.4%, which is close to 19.5%, the frequency described in ExAc_Aggregated_Populations.²⁵ The distribution of patients' geographical origin is as follows: European 66.7% (78/117), African 22.2% (26/117), Asian 6.0% (7/117), and unknown 5.1% (6/117).

Characteristics of patients and gestational diabetes

The characteristics of the patients were similar in the three groups in terms of age, BMI, and gestational age at diagnosis of diabetes (**Table 2**). The control of diabetes prior to treatment with glyburide was also similar. The average number of follow-up visits and the duration of follow-up were comparable.

The percentage of patients who switched from glyburide to insulin was much higher ($\times 1.8$) in the variant genotype group, although this was not statistically significant: 23.8% (5/21) vs. 13.0% (7/54) in the wild-type genotype group and 19.0% (8/42) in the intermediate group (trend test-logistic regression, $P = 0.24$).

Risk of hypoglycemia

Table 3 displays the rate of hypoglycemia (blood glucose below 60 mg/dL) at the different follow-up visits. The rate of hypoglycemia was significantly higher in the variant group at day 12 of treatment: 20.0% (4/20) vs. 8.1% (3/37) in the intermediate group, and 4.1% (2/49) in the wild-type genotype group (P for trend = 0.03; **Table 3**). This increased risk of hypoglycemia persisted in the second and third weeks of treatment (day 16 and day 21).

Changes in glyburide dose over time during pregnancy

Over time, the daily dose of glyburide can be increased stepwise as prescribed in the protocol, according to the glycemic control. In all three groups, there was a stepwise increase according to the glycemic balance. The last daily dose of glyburide during pregnancy was lower for patients in the variant genotype group: 4.7 mg (SD 3.5) vs. 8.7 mg (SD 5.7) in the wild-type group, and 5.7 mg (SD 3.7) in the intermediate group ($P < 0.01$; **Table 2**). The differences remained significant ($P = 0.002$) after adjustment for BMI at the time of diagnosis of gestational diabetes, to take into account differences in volume distribution.

Table 1 Distribution and frequency of the *CYP2C9**2, *3, and *OATP1B3**4 transporter genetic polymorphisms in the sample ($N = 117$) with group distribution according to the *CYP2C9* and *OATP1B3* genotypes.

<i>CYP 2C9</i> genotype	*1/*1	*1/*2	*2/*2	*1/*3	*2/*3	*3/*3	Number (%)
<i>OATP1B3</i> genotype							
*1/*1	54	10	1	5	2	0	72 (61.5%)
*1/*4	28	3	0	1	0	0	32 (27.4%)
*4/*4	12	1	0	0	0	0	13 (11.1%)
Number (Percentage)	94 (80.3%)	14 (12.0%)	1 (0.9%)	6 (5.1%)	2 (1.7%)	0 (0%)	
CPIC guidelines ⁷	62.9%	20.2%	1.6%	12.0%	1.9%	0.6%	

Gray shading indicates the wild-type group ($n = 54$), blue shading the intermediate group ($n = 42$), and green shading the variant group ($n = 21$).⁷ CPIC, Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium.

Table 2 General characteristics of patients and diabetes management according to the CYP2C9*2 or *3 and OATP1B3*4 genotypes

	Wild-type group (N = 54)	Intermediate group (N = 42)	Variant group (N = 21)	P value
General characteristics				
Age, years	33.2 (4.7)	32.4 (4.7)	31.6 (4.9)	0.97
Weight, kg	70.9 (13.3)	72.6 (14.2)	74.0 (15.3)	0.74
Gestational age at the diagnosis of gestational diabetes	26 ⁺⁴ WG ^{+day} (1.5)	27 ⁺¹ WG ^{+day} (1.7)	26 ⁺³ WG ^{+day} (1.9)	0.37
BMI at the diagnosis of gestational diabetes, kg/m ²	30.0 (4.4)	30.9 (5.0)	31.1 (4.9)	0.67
Glycemic control of the diabetes with diet before treatment (at randomization)				
Percentage of out-of-target fasting blood glucose values (≥ 95 mg/dL)	38.5% (34.6)	52.6% (34.1)	50.0% (39.6)	0.13
Percentage of out-of-target postprandial blood glucose values (≥ 120 mg/dL)	25.5% (14.3)	27.1% (23.5)	24.4% (13.5)	0.78
Glycemic control of the diabetes with glyburide				
Percentage of out-of-target fasting blood glucose values (≥ 95 mg/dL) ^a	12.9% (14.3)	25.7% (22.9)	20.9% (21.4)	< 0.01 ^b
Percentage of out-of-target postprandial blood glucose values (≥ 120 mg/dL) ^a	24.2% (14.7)	25.4% (20.6)	22.5% (12.3)	0.48 ^b
Switch to insulin	7/54 (13.0%)	8/42 (19.0%)	5/21 (23.8%)	0.47
Number of consultations	4.0 (1.5)	4.3 (2.1)	4.2 (1.5)	0.04
Duration of follow-up, days	36.4 (20.1)	36.0 (21.5)	36.1 (16.7)	0.46
Daily dose of glyburide, mg	6.3 (3.4)	5.7 (3.1)	4.9 (3.4)	0.81
Last dose of glyburide, mg	8.7 (5.7)	5.7 (3.7)	4.7 (3.5)	< 0.01

The three groups constituted were defined as follows: the wild-type group: wild-type allele genotype for both CYP2C9*1 and OATP1B3*1 (699G); the intermediate group: carriers of the decreased function CYP2C9*2 allele or OATP1B3*4 (699G>A) heterozygous variant allele; the variant group: carriers of one or two CYP2C9*3 no function alleles and/or two OATP1B3*4 (699G>A) homozygous variant alleles.

Data are expressed as mean (SD) or n (%).

BMI, body mass index.

^aFor each woman, we computed the number of blood glucose values within the targets in all her blood glucose assays, from randomization to delivery, divided by the total number of her blood glucose values. The mean of these proportions was calculated. ^bLinear regression with adjustment for glyburide dose.

The evolution of the daily dose of glyburide in the first weeks of the treatment is modeled according to the genotype in **Figure 1**. In the wild-type genotype group, the curve increases faster at the beginning of the treatment and reaches higher doses at the end of the treatment than in the variant genotype group (interaction test among the three groups, $P = 0.27$). In the intermediate group, the curve increases in the

same way as in the wild-type group at the beginning of the treatment, but subsequently decreases to a lower dose than in the wild-type group.

The fasting glycemic control of diabetes with glyburide is, on average, better in the wild-type genotype group than in the intermediate group and the variant group, with a lower percentage of out-of-target blood glucose values (**Table 2**).

Table 3 Risk of hypoglycemia (blood glucose < 60 mg/dL) at each follow-up visit according to the CYP2C9*2 or *3 and OATP1B3*4 genotypes

	Wild-type group (N = 54)	Intermediate group (N = 42)	Variant group (N = 21)	P value
Follow-up visit day 4	10.6% (5/47)	5.1% (2/39)	14.3% (3/21)	0.75*
Follow-up visit day 8	6.1% (3/49)	10.5% (4/38)	9.5% (2/21)	0.41*
Follow-up visit day 12	4.1% (2/49)	8.1% (3/37)	20.0% (4/20)	0.03*
Follow-up visit day 16	6.7% (3/45)	10.8% (4/37)	25.0% (5/20)	0.05*
Follow-up visit day 21	9.1% (4/44)	14.7% (5/34)	21.0% (4/19)	0.05*
Follow-up visit day 28	36.4% (12/34)	19.2% (5/26)	38.5% (5/13)	0.61*

Results are expressed as % (n/N).

The three groups constituted were defined as follows: the wild-type group: wild-type allele genotype for both CYP2C9*1 and OATP1B3*1 (699G); the intermediate group: carriers of the decreased function CYP2C9*2 allele or OATP1B3*4 (699G>A) heterozygous variant allele; the variant group: carriers of one or two CYP2C9*3 no-function alleles and/or two OATP1B3*4 (699G>A) homozygous variant alleles.

*Logistic regression with adjustment for glyburide dose.

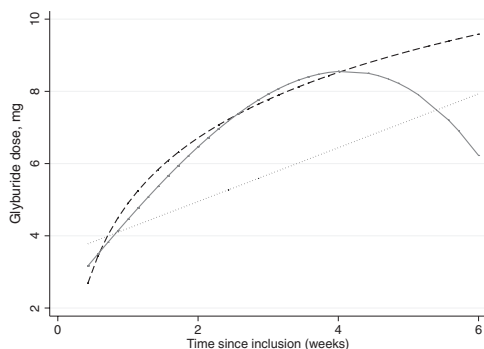


Figure 1 Average change in prescribed doses of glyburide over time during pregnancy according to the *CYP2C9**2 or *3 and *OATP1B3**4 genotypes for each consecutive follow-up. Modeling using fractional polynomials in a mixed linear model. Dashed line: *CYP2C9**1/*1 and *OATP1B3**1/*1 wild-type genotype ($N = 54$); Straight line: *CYP2C9**1/*2, *2/*2 genotypes, and *OATP1B3**1/*4 genotype ($N = 42$). Dotted line: *CYP2C9**1/*3, *2/*3, *3/*3 genotypes, and *OATP1B3**4/*4 genotype ($N = 21$).

When looking at each visit from day 4 to day 28, the poorer control of the fasting blood glucose in the variant genotype group is more pronounced between day 8 and day 16 (Table 4). Actually, the percentage of fasting blood glucose out of target was almost 3 times higher in the variant genotype group: 28% vs. 11% ($P = 0.01$). For the postprandial glycemic control, the percentage of blood glucose out of target was comparable between the two groups for each follow-up visit.

DISCUSSION

In this study, we aimed to determine the association between maternal hypoglycemic episodes and the no function variants *CYP2C9**3 and *OATP1B3**4 in women with gestational diabetes treated with glyburide. We found an increased rate of hypoglycemia at the beginning of treatment by glyburide in the variant group including *CYP2C9**3 and/or homozygous *OATP1B3**4 carriers, associated with a smaller increase in glyburide dose and a lower dose reached at the end of treatment.

Previous studies of the pharmacokinetics of hypoglycemic sulfonylureas according to *CYP2C9* genetic polymorphisms have shown higher glucose levels with increased area under the curve of glyburide concentrations and decreased glyburide clearance in healthy volunteer carriers of the variant *CYP2C9* genotype.^{9–12} Chen *et al.* also found that healthy carriers of variants *CYP2C9**2 and *3 had an increased response to administration of glipizide, with higher blood insulin levels, and higher occurrence of hypoglycemia.¹¹ Few clinical studies have evaluated the *CYP2C9* allelic variant in patients with T2DM. In 2005, Holstein *et al.* were the first to show that carriers of allelic variants of *CYP2C9**3 had an increased risk of severe hypoglycemia associated with glyburide intake.⁵ In their study, they compared 20 patients with T2DM with repeated hypoglycemic events with 337 control patients with T2DM without severe hypoglycemia. Homozygous and heterozygous *CYP2C9**3 genotypes were more frequent in the hypoglycemia group: 10% vs.

< 2%, respectively. Furthermore, the *CYP2C9* genotype may influence the risk of hypoglycemia even more in older patients with T2DM.¹⁵ Ragia *et al.* also found a higher prevalence of *CYP2C9**3 carriers among patients with T2DM and drug-associated risk of hypoglycemia.¹⁵ They compared 92 patients with T2DM receiving sulfonylurea and reporting hypoglycemia with 84 patients with T2DM receiving sulfonylurea who never reported hypoglycemia.¹³

The second main result of this study is that carriers of the no-function allele *CYP2C9**3 and/or homozygous *OATP1B3**4 had a smaller increase in glyburide dose than wild-type patients for *CYP2C9* and *OATP1B3* and reached lower daily doses of glyburide. Patients in the intermediate group had an initial increase of the glyburide dose similar to that of patients in the wild-type group, followed by a decrease after the fourth week. In a population-based cohort study, *CYP2C9**3 carriers who started on tolbutamide received significantly lower doses of tolbutamide than patients with the wild-type genotype.²⁶ As glyburide dose changes depend on glycemic control, it can be assumed that glycemic control is achieved with a lower glyburide dose. This supports previous clinical studies that found better glyburide control in carriers of the *CYP2C9* no-function variant.^{14,16} A study investigated the influence of *CYP2C9* genetic polymorphisms on plasma glyburide levels in 80 patients with T2DM treated with glyburide alone or in combination with metformin.¹⁴ There was a significant association between *CYP2C9* genotype status and better control of diabetes assessed by fasting plasma glucose values below 110 mg/dL, but no significant differences in hypoglycemic adverse events between the genotypic groups.¹⁴ In another study, the genetic *CYP2C9**3 variant was found to contribute independently to good glyburide control in patients with T2DM treated with glyburide.¹⁶ Carriers of the *CYP2C9**3 allelic variant are associated with an improved response to sulfonylureas and a decrease in treatment failure, with a positive effect on diabetes assessed by lower glycated hemoglobin levels.^{17,18} However, this has been shown in patients with T2DM treated by sulfonylurea for a longer treatment period. In gestational diabetes, the treatment stops at the end of pregnancy (i.e., delivery plus the duration of treatment does not exceed 15 weeks).

Until now, this is the first study to evaluate the pharmacogenetic factors and the response after glyburide treatment in women with gestational diabetes. To the best of our knowledge, this is the first study in which the clinical significance of genetic polymorphisms of *OATP1B3* has been investigated, as no clinical studies are presently available.^{19,27} *In vitro* studies have shown that the *OATP1B3* (699G>A) variant can significantly decrease the transport capacity of glyburide and glipizide.²³ Carriers of *OATP1B3* or *CYP2C9* variants may have an overdose in hypoglycemic sulfonylureas, due to decreased hepatic uptake and decreased metabolism leading to lower clearance and higher drug concentrations. The potential impact may be the risk of hypoglycemia. According to our findings, genotyping of both *CYP2C9* and *OATP1B3* would improve the prediction of side effects associated with the use of glyburide or even of a worse response to treatment for the variant genotype.

Our study has highlighted two different polymorphisms involved in glyburide metabolism. Gestational diabetes is a different entity from T2DM, as it is less severe than T2DM, for

Table 4 Control of diabetes in terms of fasting and postprandial blood glucose at each follow-up visit according to the *CYP2C92 or *3 and *OATP1B3**4 genotypes**

	Wild-type group (N = 54)	Intermediate group (N = 42)	Variant group (N = 21)	P value
Follow-up visit day 4				
Number of patients	48	39	21	
Percentage of fasting blood glucose out of target (≥ 95 mg/dL)	19%	34%	28%	0.17 ^b
Percentage of postprandial blood glucose out of target (≥ 120 mg/dL)	21%	24%	17%	0.50 ^b
Follow-up visit day 8				
Number of patients	49	38	21	
Percentage of fasting blood glucose out of target (≥ 95 mg/dL)	16%	34%	30%	0.02 ^b
Percentage of postprandial blood glucose out of target (≥ 120 mg/dL)	28%	33%	32%	0.19 ^b
Follow-up visit day 12 49/20 ^a				
Number of patients	49	37	20	
Percentage of fasting blood glucose out of target (≥ 95 mg/dL)	11%	33%	28%	0.001 ^b
Percentage of postprandial blood glucose out of target (≥ 120 mg/dL)	29%	27%	25%	0.97 ^b
Follow-up visit day 16				
Number of patients	46	37	20	
Percentage of fasting blood glucose out of target (≥ 95 mg/dL)	14%	34%	23%	0.05 ^b
Percentage of postprandial blood glucose out of target (≥ 120 mg/dL)	24%	29%	23%	0.63 ^b
Follow-up visit day 21				
Number of patients	44	34	19	
Percentage of fasting blood glucose out of target (≥ 95 mg/dL)	12%	19%	19%	0.49 ^b
Percentage of postprandial blood glucose out of target (≥ 120 mg/dL)	21%	19%	19%	0.96 ^b
Follow-up visit day 28				
Number of patients	34	26	13	
Percentage of fasting blood glucose out of target (≥ 95 mg/dL)	11%	24%	25%	0.19 ^b
Percentage of postprandial blood glucose out of target (≥ 120 mg/dL)	27%	26%	28%	0.46 ^b

^aFor each woman, we computed the number of blood glucose values within the targets in all her blood glucose assays, from the previous visit to the follow-up visit day, divided by the total number of her blood glucose values. The mean of these proportions was calculated. ^bLinear regression with adjustment for glyburide dose.

many reasons. This is a time-limited disease of pregnancy that is less severe as it requires treatment at lower doses than T2DM. Control of gestational diabetes is important to prevent fetal hyperinsulinism and to avoid obstetrical complications due to diabetes. So, treatment is initiated in gradual dose increments according to glycemic control and hypoglycemic events during pregnancy.

This treatment currently has a real relevance in gestational diabetes, compared with insulin, because of its simplicity of use and better patient adherence. However, in the INDAO trial, patients treated with glyburide had a significantly higher maternal

rate of hypoglycemia than patients treated with insulin: 28.8% vs. 3.5%. We showed, in this study, that the rate of hypoglycemia is increased in carriers of the *CYP2C9* and *OATP1B3* variants. The benefit-risk ratio of glyburide could be improved by early screening for carriers of the variants in order to treat with glyburide only wild-type and intermediate patients. Therefore, there appears to be a role for the genetic factors *CYP2C9* and *OATP1B3*. Thus, *CYP2C9* and *OATP1B3* genotyping to pre-emptively guide glyburide prescription for gestational diabetes is feasible and may be a potential strategy for reducing the risk of severe hypoglycemia.

This is the first study to evaluate the role of genetic factors in pregnant women with gestational diabetes. Furthermore, our study is the first to combine the *CYP2C9* and *OATP1B3* genetic polymorphisms involved in metabolism and hepatic transport. Even so, the *CYP2C9*-pharmacogenetic strategy to prevent hypoglycemia will need to be validated further in a larger randomized controlled trial. A study at a larger scale is needed in women with gestational diabetes treated by glyburide.

Our study has some limitations. It was an ancillary study of the INDAO randomized trial, and this had several consequences. Blood glucose levels were not recorded, as we only had data on whether or not they were out of target. The sample size for our specific study was small, which limits the interpretation of the results. In addition, there was no statistical correction for multiple comparisons due to many follow-up visits. This correction is not mandatory in epidemiological studies in which a statistical analysis strategy is defined,²⁸ but it limits here a strong conclusion regarding the efficacy of glyburide in the wild-type group.

In conclusion, our study confirms previous reports describing the association between the *CYP2C9* and *OATP1B3* variant alleles and hypoglycemia related to the use of glyburide.

*CYP2C9*3* and *OATP1B3*4* screening might be useful to identify women with gestational diabetes at high risk for hypoglycemia with glyburide treatment.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank David Marsh, BSc (Biophysics, First Class Honours, University of Leeds, UK) PhD (Biophysics, King's College London, UK), freelance copyeditor/proofreader, for language editing. We thank Elodie Dupuis and Solene Fabre for their technical assistance for the biobank. The biobank INDAO is stored in CRB Paris South (BRIF: BB-0033-00089).

FUNDING

This study was funded by a research grant from the French Ministry of Health and was sponsored by Paris Public Hospitals (AP-HP, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris), via its Clinical Research Department.

CONFLICT OF INTEREST

All other authors declared no competing interests for this work.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

H.B. and J.B. wrote the manuscript. L.B. and C.V. designed the research. M.V.S., L.M., A.L., and N.B. performed the research. H.B., J.B., and C.V. analyzed the data.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data of the INDAO study are the property of Paris Public Hospitals (AP-HP, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris). The authors of this article did not have special access privileges to access the data. They contracted with AP-HP to analyze them. Consultation of the data by other interested researchers may be considered by AP-HP, subject to prior determination of the terms and conditions of such consultation and in respect of compliance with the applicable French and European regulations. The request must be addressed to the Delegation for Clinical Research and Innovation (DRCI) at secretariat-direction.drc@aphp.fr.

© 2020 The Authors. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* © 2020 American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics

1. Kirchheiner, J. & Brockmöller, J. Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Clin. Pharmacol. Ther.* **77**, 1–16 (2005).

2. Carbonell, N. et al. *CYP2C9*3* loss-of-function allele is associated with acute upper gastrointestinal bleeding related to the use of NSAIDs other than aspirin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **87**, 693–698 (2010).
3. Teo, S.K. & Ee, C.H. Hypoglycaemia in the elderly. *Singapore Med. J.* **38**, 432–434 (1997).
4. Asplund, K., Wiholm, B.E. & Lithner, F. Glibenclamide-associated hypoglycaemia: a report on 57 cases. *Diabetologia* **24**, 412–417 (1983).
5. Holstein, A. et al. Association between *CYP2C9* slow metabolizer genotypes and severe hypoglycaemia on medication with sulphonylurea hypoglycaemic agents. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **60**, 103–106 (2005).
6. Morin, S. et al. Pharmacogenetics of acenocoumarol pharmacodynamics. *Clin. Pharmacol. Ther.* **75**, 403–414 (2004).
7. Theken, K.N. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline (CPIIC) for *CYP2C9* and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin. Pharmacol. Ther.* **108**, 191–200 (2020).
8. Yang, J.Q. et al. Frequency of cytochrome P450 2C9 allelic variants in the Chinese and French populations. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **17**, 373–376 (2003).
9. Niemi, M. et al. Glyburide and glimepiride pharmacokinetics in subjects with different *CYP2C9* genotypes. *Clin. Pharmacol. Ther.* **72**, 326–332 (2002).
10. Kirchheiner, J. et al. Impact of *CYP2C9* amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Clin. Pharmacol. Ther.* **71**, 286–296 (2002).
11. Wang, R., Chen, K., Wen, S.Y., Li, J. & Wang, S.Q. Pharmacokinetics of glimepiride and cytochrome P450 2C9 genetic polymorphisms [2]. *Clin. Pharmacol. Ther.* **78**, 90–92 (2005).
12. Yin, O.Q.P., Tomlinson, B. & Chow, M.S.S. *CYP2C9*, but not *CYP2C19*, polymorphisms affect the pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in Chinese subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.* **78**, 370–377 (2005).
13. Ragia, G., Petridis, I., Tavidou, A., Christakidis, D. & Manolopoulos, V.G. Presence of *CYP2C9*3* allele increases risk for hypoglycemia in type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Pharmacogenomics* **10**, 1781–1787 (2009).
14. Surendiran, A. et al. Influence of *CYP2C9* gene polymorphisms on response to glibenclamide in type 2 diabetes mellitus patients. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **67**, 797–801 (2011).
15. Klen, J., Dolžan, V. & Janež, A. *CYP2C9*, *KCNJ11* and *ABCC8* polymorphisms and the response to sulphonylurea treatment in type 2 diabetes patients. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **70**, 421–428 (2014).
16. Castelán-Martínez, O.D. et al. *CYP2C9*3* gene variant contributes independently to glycaemic control in patients with type 2 diabetes treated with glibenclamide. *J. Clin. Pharm. Ther.* **43**, 768–774 (2018).
17. Suzuki, K. et al. Effect of *CYP2C9* genetic polymorphisms on the efficacy and pharmacokinetics of glimepiride in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **72**, 148–154 (2006).
18. Zhou, K. et al. Loss-of-function *CYP2C9* variants improve therapeutic response to sulfonylureas in type 2 diabetes: a Go-DARTS study. *Clin. Pharmacol. Ther.* **87**, 52–56 (2010).
19. Chen, Y. et al. Interaction of sulfonylureas with liver uptake transporters *OATP1B1* and *OATP1B3*. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **123**, 147–154 (2018).
20. Yang, F. et al. *OATP1B3* (699G>A) and *CYP2C9*2*, *3 significantly influenced the transport and metabolism of glibenclamide and glipizide. *Sci. Rep.* **8**, 1–9 (2018).
21. Sénat, M.-V. et al. Effect of glyburide vs subcutaneous insulin on perinatal complications among women with gestational diabetes. *JAMA* **319**, 1773 (2018).
22. Schwarz, U.I. et al. Identification of novel functional organic anion-transporting polypeptide 1B3 polymorphisms and assessment of substrate specificity. *Pharmacogenet. Genomics* **21**, 103–114 (2011).
23. Yang, F. et al. *CYP2C9* and *OATP1B1* genetic polymorphisms affect the metabolism and transport of glimepiride and glizclazide. *Sci. Rep.* **8**, 10994 (2018).

13. Hebert M, Ma X, Naraharisetti S, Krudys K, Umans J, Hankins G, et al. Are We Optimizing Gestational Diabetes Treatment With Glyburide? The Pharmacologic Basis for Better Clinical Practice. *Clin Pharmacol Ther.* 2009 Jun 18; 85(6):607–14. <https://doi.org/10.1038/clpt.2009.5> PMID: 19295505
14. Schwartz RA, Rosenn B, Aleksa K, Koren G. Glyburide transport across the human placenta. *Obstet Gynecol.* 2015 Mar; 125(3):583–8. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000000672> PMID: 25730219
15. Mohamed Z, Arya VB, Hussain K. Hyperinsulinaemic hypoglycaemia: genetic mechanisms, diagnosis and management. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2012 Dec; 4(4):169–81. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.821> PMID: 23032149
16. Li N, Deng Y, Wang D, Qiao Y, Li F. Determination of glibenclamide and puerarin in rat plasma by UPLC-MS/MS: application to their pharmacokinetic interaction study. *Talanta.* 2013; 30:109–15.
17. Bourget P, Fernandez H, Demirdjian S, Delouis C, Frydman R. [Determination of the ratio of serum concentrations of tobramycin between fetus and mother at birth. A model of small scale pharmacokinetics]. *Arch Fr Pediatr.* 1991 Oct; 48(8):543–7. PMID: 1768193
18. Royston P, Sauerbrei W. *Multivariable model-building. A pragmatic approach to regression analysis based on fractional polynomials for modelling continuous variables.* Chichester: John Wiley & Sons; 2008. 2008.
19. StataCorp. *Stata Statistical Software: Release 14.* College Station; 2015.
20. Malek R, Davis SN. Pharmacokinetics, efficacy and safety of glyburide for treatment of gestational diabetes mellitus. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2016 Jun 2; 12(6):691–9. <https://doi.org/10.1080/17425255.2016.1187131> PMID: 27163280
21. Prendergast BD. Glyburide and glipizide, second-generation oral sulfonylurea hypoglycemic agents. *Clin Pharm.* 1984; 3(5):473–85. PMID: 6435940
22. Kirchheiner J, Brockmöller J, Meineke I, Bauer S, Rohde W, Meisel C, et al. Impact of CYP2C9 amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Apr; 71(4):286–96. <https://doi.org/10.1067/mcp.2002.122476> PMID: 11956512
23. Kraemer J, Klein J, Lubetsky A, Koren G. Perfusion studies of glyburide transfer across the human placenta: Implications for fetal safety. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Jul; 195(1):270–4.
24. Gedeon C, Anger G, Piquette-Miller M, Koren G. Breast Cancer Resistance Protein: Mediating the Trans-placental Transfer of Glyburide across the Human Placenta. *Placenta.* 2008 Jan; 29(1):39–43. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2007.08.004> PMID: 17923155
25. Pollex E, Lubetsky A, Koren G. The Role of Placental Breast Cancer Resistance Protein in the Efflux of Glyburide across the Human Placenta. *Placenta.* 2008 Aug; 29(8):743–7. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2008.05.001> PMID: 18558430
26. Shuster DL, Risler LJ, Prasad B, Calamia JC, Voellinger JL, Kelly EJ, et al. Identification of CYP3A7 for glyburide metabolism in human fetal livers. *Biochem Pharmacol.* 2014 Dec 15; 92(4):690–700. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.09.025> PMID: 25450675

Titre: Déterminants de l'hypoglycémie néonatale et maternelle chez les femmes ayant un diabète gestationnel traité par glyburide

Mots clés: passage placentaire, diabète gestationnel, hypoglycémie, Cytochrome P450 2C9, OATP1B3, glyburide, mesures anthropométriques

Résumé : Le diabète gestationnel (DG), dont la prévalence était de 10,8% en 2016 en France, est associée à une morbidité maternelle et néonatale. Actuellement, le traitement de référence est l'insulinothérapie. Le glyburide est efficace notamment sur le contrôle de l'équilibre glycémique par rapport à l'insuline. Cependant, il serait associé à une augmentation du risque d'hypoglycémie maternelle et néonatale en comparaison à l'insulinothérapie.

L'objectif général de cette thèse était de mieux comprendre les déterminants de l'hypoglycémie maternelle et de l'hypoglycémie néonatale à partir d'analyses ancillaires et secondaires issues de l'essai randomisé national INDAO, publié en 2018.

Les objectifs spécifiques étaient d'étudier 1-le passage transplacentaire de glyburide à l'accouchement, 2-l'association entre les mesures anthropométriques néonatales (rapport poids-taille (RPT) et poids de naissance) et l'hypoglycémie néonatale chez les femmes bénéficiant d'un traitement médicamenteux du DG, 3-l'association entre l'hypoglycémie maternelle et les variants à fonction diminuée *CYP2C9*2* et les variants perte de fonction *CYP2C9*3* et *OATP1B3*4*, puis l'association entre la dose quotidienne de glyburide et les porteurs de variants perte et diminution de fonction.

Nous avons montré qu'il existait un passage placentaire du glyburide avec un rapport de la concentration de glyburide fœtus/mère de 0,62 (IC 95% : 0,50-0,74). Le risque d'hypoglycémie néonatale augmentait de manière significative avec l'augmentation de la concentration de glyburide dans le cordon ombilical, indépendamment de la macrosomie néonatale. Ensuite, nous avons montré que le risque accru d'hypoglycémie néonatale est associé à des valeurs extrêmes du RPT, pour un faible Z-score du RPT (inférieur à -1,28), et un Z-score du RPT élevé (supérieur à 1,28), indépendamment du traitement maternel. Enfin, nous avons constaté un taux augmenté d'hypoglycémie maternelle au début du traitement par glyburide dans le groupe variant comprenant les porteuses de l'allèle *CYP2C9*3* et/ou *OATP1B*4* à l'état homozygote, associé à une augmentation moindre de la dose de glyburide et à une dose plus faible de glyburide atteinte en fin de traitement.

Ces travaux apportent de nouvelles connaissances concernant le mécanisme d'action du glyburide chez les femmes enceintes, permettant une meilleure utilisation dans le traitement du DG. Demeurent cependant pour l'enfant les conséquences potentielles à long terme de l'exposition prolongée in utero au glyburide.

Title : Determinants of neonatal and maternal hypoglycemia in women with gestational diabetes treated with glyburide

Keywords: transplacental transfer, gestational diabetes, hypoglycemia, cytochrome P450 isoform 2C9, OATP1B3, glyburide, anthropometric measure

Abstract : Gestational diabetes (GD), whose prevalence in France was 10.8% in 2016, is associated with maternal and neonatal morbidity. Currently, the reference treatment is insulin therapy. Glyburide is effective, particularly in achieving glycemic control, compared with insulin. However, according to some studies, it is associated with an increased risk of maternal and neonatal hypoglycemia compared to insulin therapy.

The main objective of this thesis was to better understand the determinants of maternal hypoglycemia and neonatal hypoglycemia based on ancillary and secondary analyses from the national randomized INDAO trial, published in 2018. The specific objectives were to investigate 1-the transplacental transfer of glyburide at delivery, 2-the association between neonatal anthropometric measures (weight-for-length ratio [WLR] and birth weight) and neonatal hypoglycemia in women receiving drug therapy for GD, 3-the association between maternal hypoglycemia and *CYP2C9*2* reduced-function variants and *CYP2C9*3* and *OATP1B3*4* loss-of-function variants, and then in a second step to investigate the association between daily glyburide dose and carriers of loss-of-function and reduced-function variants.

First, we showed that there was a placental transfer of glyburide with a fetal/maternal glyburide concentration ratio of 0.62 (95% CI 0.50-0.74). The risk of neonatal hypoglycemia increased significantly with increasing umbilical cord blood glyburide concentration, regardless of neonatal macrosomia. Second, we showed that the increased risk of neonatal hypoglycemia was associated with extreme values of WLR, for a low WLR Z-score (less than -1.28) and a high WLR Z-score (greater than 1.28), regardless of maternal treatment. Finally, we found an increased rate of maternal hypoglycemia at the beginning of glyburide treatment in the variant group including carriers of the *CYP2C9*3* and/or *OATP1B*4* allele in a homozygous state, associated with a smaller glyburide dose increment and a lower glyburide dose reached at the end of treatment.

This thesis work provides new insights into the mechanism of action of glyburide in pregnant women, allowing for better use in the treatment of GD. However, the potential long-term consequences for the child of prolonged in utero exposure to glyburide remain.